للعرض فقط

ميكروبيولوجيا الأراضى

تأليف

دكتور / سعد على زكى محمود
أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية المتفرغ
عميد كلية الزراعة بجامعة عين شمس الأسبق

دكتور / عبد الوهاب محمد عبد الحافظ
أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية
ورئيس جامعة عين شمس

دكتور/ محمد الصاوى محمد مبارك
أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية المتفرغ
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

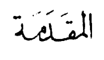
الطبعة الثانية
القاهرة - ١٩٩٧

توزيع
مكتبة الأنجلو المصرية
شارع محمد فريد - القاهرة

ميكروبيولوجيا الأراضى
سعد زكى ، عبد الوهاب ، الصاوى
القاهرة - الطبعة الأولى - ١٩٨٨
القاهرة - الطبعة الثانية - ١٩٩٦
١٧٠ × ٢٤٠ مم / ٤٥١ صفحـــة

رقم الايداع بدار الكتب بالقاهرة ٥٥٧٩ / ١٩٨٧
الرقم الدولى للكتاب ٤ ـ ٠٦٠٤ ـ ٠٥ ـ ٩٧٧ ISBN

تصميم وتنفيذ الغلاف
اهــداء من
الدكتور/ سـعيد الــزميتى
أســتاذ المبيدات المساعد
كلية الزراعة ـ جامعة عين شمس



التربة ليست جسما ميتا نتج بسبب عوامل التعرية للصخور ، بل هي جسم يعج بالحياة بما تحويه من كائنات دقيقة وغير دقيقة تؤثر على خواصها الطبيعية والكيماوية والبيولوجية ، ولا نبالغ اذا قلنا انه بدون ميكروبات الاراضي لتوقفت الحياة على سطح هذا الكوكب .

فميكروبات الاراضي من بكتريا وفطريات وطحالب وبروتوزوا ، تلعب دورا اساسيا في المحافظة على خصوبة التربة ، وعلى امداد النباتات النامية باحتياجاتها الغذائية وزيادة انتاجيتها ، وذلك من خلال معدنتها للمواد العضوية ، وتيسير العناصر الغذائية ، وتثبيت النتروجين الجوى ، وافراز الكثير من المواد المشجعة للنمو . كما ان تلك الميكروبات لها دور فعال في المحافظة على التوازن البيولوجي في الكون ، عن طريق انتاجها لثاني اكسيد الكربون خلال عمليات تحلل المواد العضوية مما يعوض النقص الذى يحدث خلال عملية التمثيل الضوئي المستمرة ، وفي تحلل ملوثات البيئة وتحلل المبيدات الزراعية .

وقد تتنافس الميكروبات مع النباتات على العناصر الغذائية الموجودة بالتربة ، في ظروف معينة ، او تفرز سموما تؤثر على نمو النباتات او تسبب امراضا لها فتؤثر بذلك على انتاجيتها .

ان تفهم هذه العلاقات المتبادلة بين الميكروبات والاراضي والنبات بغرض الوصول الى انسب الظروف لانتاج اعلى محصول من النبات ، هو مايهدف اليه دراسة علم ميكروبيولوجيا الاراضي . وهذا العلم ليس نظاما مستقلا بنفسه بل له اصوله التي يمكن تتبعها في علوم الميكروبيولوجي والاراضي وكيمياء الانظمة الحيوية وامراض النبات وعلوم البيئة . وبالرغم من ان علم ميكروبيولوجيا الاراضي يعتبر من العلوم الحديثة التي بدأت دراستها المتعمقة في اوائل هذا القرن ، الا ان تراكم المعلومات والبحوث في هذا المجال مكنتنا من التعرف على انواع واهمية الانشطة التي تقوم بها الميكروبات التي تعيش في التربة ، حيث تعتبر التربة بالنسبة للاحياء التي تسكنها نظاما بيئيا فريدا ، يجب عليها ان تتأقلم معها وتحصل على احتياجاتها منها .

وضع هذا المؤلف بعد خبرة سنين طويلة من البحث العلمي ، اجريناه واجراه زملاء لنا في المراكز البحثية المختلفة ، ليستفيد به الطالب والباحث في مجال العلوم الزراعية والتطبيقية ، واننا نعترف بان التقدم العلمي الضخم في السنوات الاخيرة ادى الى عدم تمكننا من تغطية الجوانب التفصيلية لكل موضوع ، غير اننا كلنا امل في ان يكون قد تم وضع اساس يمكن القارئ من ان يبنى عليه .

ولقد زود الكتاب بعدد وافر من المراجع المختارة وذلك لاهميتها ، حتى يتمكن القارئ من الرجوع الى المصادر الاصلية المنقول عنها الكثير ، ليستطيع اعادة الدراسة الدقيقة لكل موضوع .

واننا اذ ندين بالفضل لمن تعلمنا منهم من جيل الرواد ، ولمن اخذنا عنهم من جيل الزملاء ، فاننا نشكر كل من قدم مساعدة او تشجيع لاخراج هذا الكتاب .

وبالله نستعين ، انه نعم المولى ونعم النصير .

المؤلفون

القاهرة

نوفمبر ١٩٨٧

المحتـــــويات

الفصـــل | الصفحـة

الفصل الرابع

الفصل الخامس

الفصل | الصفحة

الفصل السادس

الفصل السابع

الفصل | الصفحة

الفصـــل — الصفحـة



الفصل الأول

١ـ تركيب التربة وعلاقته بنمو الميكروبات

من المعروف أن نمو النباتات فى أى تربة يعتمد على قدرة هذه التربة على امداد النباتات باحتياجاتها من العناصر الغذائية الضرورية وهذه القدرة تعتمد على عمليات طبيعية وكيماوية وبيولوجية معقدة ،وقد اثبتت الدراسات منذ وقت طويل أنه بدون النشاط البيولوجى فى التربة فأنه من المشكوك فيه أن تصبح التربة قادرة على امداد النباتات النامية بما يكفيها من كثير من احتياجاتها الغذائية الضرورية .

ومن الناحية الايكولوجية فأن التربة يسكنها كثير من الاحياء الميكروبية وغير الميكروبية ولكن الاحياء الدقيقة الميكروبية هى التى تلعب الدور الرئيسى فى امداد النباتات بالعناصر الغذائية وتكوين ك أ٢ .

والتربة تحتوى على عديد من مختلف المجموعات الميكروبية مثل الـ

Bacteria, Actinomycetes, Fungi, Algae, Protozoa, Viruses.

وكل هذه المجموعات يوجد منها فى كل تربة اجناس وانواع عديدة ونسب وجود هذه المجموعات فى الاراضى المختلفة يتحكم فيها ظروف الوسط،فالفطريات تسود مثلا فى التربة الحامضية والبكتريا تسود فى التربة المتعادلة والمائلة للقلوية .

وتتأثر الميكروبات التى تعيش فى التربة بمكونات هذه التربة وظروفها الطبيعية والكيماوية كثيرا ، لذلك فمن المهم دراسة ومناقشة تركيب التربة وعلاقته بالنشاط البيولوجى فيها .

ومن المعروف أن التربة تكونت نتيجة التعرية Weathering للصخور الاصلية التى تكونت منها ، والتربة المتكونة تختلف فى صفاتها الكيماوية والطبيعية نتيجة لاختلاف مادة الاصل التى تكونت منها ودرجة التعرية ، وبصرف النظر عن الاختلافات فى صفات الاراضى المختلفة فأن اى تربة تتكون عموما من خمسة مكونات اساسية وهى : الجزء المعدنى ـ الجزء العضوى ـ الماء الارضى (محلول التربة) ـ الهواء الارضى ـ احياء الارض .

١) الجزء المعدنى Mineral material :

ينتج عن عملية تعرية الصخور حبيبات مختلفة الاحجام،وهذا يؤدى الى ان تتكون الارض من خليط من حبيبات معدنية ذات اقطار مختلفة ونسب هذه الحبيبات الى بعضها هو الذى يحدد قوام الارض فالحبيبات التى اكبر من ٥٠ ميكروميتر تمثل الرمل والحصى ، ٢ - ٥٠ ميكروميتر تمثل السلت ، أقل من ٢ ميكروميتر تمثل الطين .

ومن الحبيبات المختلفة الداخلة فى تركيب قوام الارض تعتبر حبيبات الطين أهمها فهى تتميز بسطح كبير بالنسبة لوزنها ولها تأثيرات كبيرة على الصفات الطبيعية والكيماوية وبالتالى على النشاط البيولوجى فيها . ومعادن الطين لها تركيب بللورى طبقى Plate like layers ولها سطح نوعى Specific surface كبير . ويجب ان نلاحظ ان نوع معدن الطين يؤثر كثيرا على السطح النوعى فمثلا معدن الـ Montmorillonite عندما يمتص الماء ينتفخ فيزيد السطح النوعى له ، بينما معدن الـ Kaolinite قابليته للتمدد قليلة ، لذلك يلاحظ ان السطح النوعى له يصل الى $50\ m^2/gm$ ، بينما يصل الى $200\ m^2/gm$ فى حالة الـ Montmorillonite .

ولقد اظهرت الدراسات ان معادن الطين لها تأثيرات مختلفة على ميكروبات التربة فقد لوحظ مثلا فى بعض الدراسات ان اضافة معدن الـ Montmorillonite بنسبة قليلة الى البيئات الغذائية يقلل من معدل تنفس الفطريات بينما يؤدى اضافته سواء بنسبة قليلة او كبيرة الى زيادة نشاط البكتريا ، ولقد اوضح (Starkey, 1966)* ان التأثير المنشط للـ Montmorillonite على بكتريا التربة يرجع الى صفاته الطبيعية والكيماوية ، فأن قابلية هذا المعدن على الانتفاخ وبالتالى سطحه النوعى الكبير يعطيه سعة تبادلية كبيرة مما يجعل له القدرة على ادمصاص ايونات الهيدروجين التى تتكون اثناء التمثيل الغذائى للبكتريا واستبدالها بكتيونات قاعدية بذلك تعمل على حفظ الـpH من التغيرات الشديدة وهذه تساعد على نشاط البكتريا . اما التأثير المثبط لهذا المعدن على الفطريات فيرجع الى اللزوجة Viscosity العالية والتى تؤثر على حركة الاكسوجين اللازم لنمو الفطريات .

ان حبيبات التربة كما نعرف لاتوجد عادة فى صورة منفردة ولكنها توجد فى صورة تكتلات Aggregates بدرجات مختلفة ودرجة تكوين هذه الـ Aggregates تحدد بناء التربة Structure ، ويلاحظ ان الميكروبات تلعب دورا اساسيا فى بناء التربة حيث يقوم ميسليوم الفطريات والاكتينوميسيتات بتجميع الحبيبات لتكوين الـ Aggregates كما تلعب السكريات المعقدة Polysaccharides والمواد اللزجة الاخرى التى تكونها البكتريا دورا كبيرا فى تكوينها ودرجة الـ Aggregation وحجمها ونظام تكوينها يؤثر من ناحية اخرى على النشاط الميكروبى لما له من انعكاس على التهوية .

٢) الجزء العضوى Organic material :

تصل المواد العضوية ذات الاصل النباتى او الحيوانى الى التربة باستمرار كما تصل اليها عديد من المركبات الجديدة نتيجة للنشاط الانسانى وخلال العمليات الزراعية مثل

---

* cited after Alexander, 1977.

اضافة الاسمدة والمخلفات وبقايا النباتات ومبيدات الحشائش والحشرات والفطريات . والمواد العضوية المختلفة التى تصل الى التربة تتعرض لعديد من التغيرات الميكروبية المختلفة وخلال تحلل هذه المواد العضوية واعادة البناء يتكون الدبال Humus الذى له اهميته الكبرة فى مختلف النواحى الطبيعية والكيماوية والبيولوجية . فالدبال يعتبر المخزن الرئيسى الذى تستمد منه الميكروبات غذاءها سواء بطريقة مباشرة او غير مباشرة،لذلك فان نسبة الدبال فى التربة لها ارتباط كبير بمعدل النشاط البيولوجى فيها ، علاوة على تأثيره فى قدرة التربة على الاحتفاظ بالماء وسعته التبادلية العالية وقدرته التنظيمية Buffering effect وغيرها من التأثيرات التى تنعكس على النشاط البيولوجى .

ولا يمكن تحديد التركيب الكيماوى للدبال بالضبط حيث يتكون من عديد من المركبات الناتجة من بقايا النباتات المتحللة ونواتج التحلل وبعض ناتجات التمثيل الغذائى للميكروبات. ويحتوى الدبال على نسبة مرتفعة من اللجنين والمواد المقاومة للتحلل الميكروبى وذلك نظرا لاختفاء المواد السهلة التحلل تدريجيا مما يؤدى الى تركيز المواد الصعبة التحلل فى الدبال . وسوف نناقش فى موضع آخر تركيب بقايا النباتات وتحللها وتركيب الدبال وخواصه . ويوضح جدول (١-١) المكونات الاساسية الداخلة فى تركيب الدبال .

جدول (١-١)

المكونات الاساسية الداخلة فى تركيب الدبال*

(عن الكسندر ١٩٧٧)

١ - احماض امينية :
مثل الجلوتاميك - الالانين - الفالين - البرولين - السيستين - والفينيل الانين .
٢ - بيورينات : جوانين - أدنين .
٣ - بيريميدينات : سيتوزين - ثيمين - يوراسيل .
٤ - مركبات حلقية
٥ - احماض يورونية : مثل حمض جلوكورونيك ، وحمض جلاكتورونيك .
٦ - سكريات امينية : مثل الجلوكوزأمين ، استيل جلوكوزأمين .
٧ - سكريات خماسية : زيلول - ارابينوز - ريبوز .
٨ - سكريات سداسية : جلوكوز - جلاكتوز - مانوز .
٩ - سكريات كحولية : اينوزيتول - مانيتول .
١٠ - سكريات ميثيلية : رامنوز - فوكوز - ميثيل زيلوز - ميثيل ارابينوز .
١١ - احماض اليفاتية : خليك - فورميك - لاكتيك - سكسنيك .

* اغلب هذه المكونات لا توجد على حالة حرة .

ونسبة المادة العضوية فى التربة لها انعكاس كبير على اعداد ونشاط الميكروبات فى الاراضى وعادة فأن الاراضى الفقيرة فى المادة العضوية تحتوى على اعداد قليلة من الميكروبات مقارنة مع التربة الغنية بالمادة العضوية ولذلك فعادة ما يلاحظ وجود علاقة طردية مباشرة بين نسبة المادة العضوية واعداد الميكروبات ، ما لم يكن هناك عامل يحد من نشاط الميكروبات بالاراضى مثل الملوحة والقلوية او غيرها من العوامل .

٣) الجزء السائل Liquid component :

الجزء السائل فى التربة او محلول التربة له اهمية كبيرة بالنسبة للنشاط البيولوجى فالماء تصل نسبته الى ٩٠ ٪ من بروتوبلازم الخلايا الحية كما ان احياء التربة الدقيقة يتغذى اغلبها على مركبات ذائبة فى الماء تأخذها من الوسط بواسطة الانتشار الغشائى واى عامل يؤثر على الحركة الحرة لمحلول التربة داخل خلايا الميكروبات - ينعكس بشدة على النشاط البيولوجى فيها .

وتركيب محلول التربة فى تغير مستمر وهذا التغير له انعكاسات واضحة على الاحياء الدقيقة فيها . فالماء الارضى يحتوى على عديد من المواد الذائبة والتى تتضمن مركبات عضوية ومعدنية وغازات ،وبتغير نسبة الرطوبة فى التربة يتغير كثيرا تركيز هذه المواد فيه .

ويعتبر الماء الحر Gravitational الذى يتحرك الى اسفل مع الجاذبية والماء الشعرى Capillary ميسران للميكروبات . اما الماء الاسموزى Osmotic وهو الممسوك بقوة اكبر حول الحبيبات فاقل قابلية للاستفادة،أما الماء الهيجروسكوبى Hygroscopic فهو غير ميسر للميكروبات .

ويجب ان نلاحظ ان هناك ارتباطا وثيقا بين الماء والهواء الارضى فكلما زادت الرطوبة واتجهت نحو التشبع كلما قلت تهوية الارض والعكس صحيح .ومن الملاحظ ان محتوى الرطوبة فى الارض له تأثير واضح على المحتوى الميكروبى فيها ، فمن المعروف ان كثيرا من الميكروبات تقتل بالجفاف وان الانواع المقاومة للجفاف هى التى تبقى بعد تعرض الارض لفترة جفاف طويلة . وعلى ذلك فان اى تغير فى نسبة الرطوبة يؤثر على اعداد وانواع الميكروبات السائدة فى الارض ، فلقد وجد (Meikle John, 1957)* أن للجفاف اثر كبير على المحتوى الميكروبى فى اراضى كينيا فمع استمرار الجفاف وصلت نسبة الـ Actinomycetes الى ٣٠ - ٩٠ ٪ من الميكروبات الكلية ، وايضا وجد (Warcurp, 1967)* ان الجفاف اثر بوضوح على فطريات الارض فى استراليا ولم يبق فيها الا الجراثيم والـ Sclerotia او Resting hyphae ولقد تبين ان الميكروبات لاتستطيع النمو فى الارض التى بها pF اعلى من ٢ر٤ (وهذه تمثل نقطة الذبول الدائمة لاغلب النباتات) وان الـ pF الامثل لميكروبات التربة اقل من ٣ .

---

* c.a. Alexander, 1977.

ولقد تبين من الدراسات ان تجفف التربة ثم تعرضها للرطوبة ثانية ادى الى ان النشاط البيولوجى فيها قد استعاد قوته بسرعة بل وكثيرا ما يكون اكثر منه قبل التجفيف،ولقد عزى ذلك الى التأثير الايجابى للتجفيف والترطيب على ذوبان بعض المواد الغذائية وخصوصا المركبات العضوية حيث يؤدى التجفيف والترطيب المتكرر الى تغيرات واسعة فى تركيب جزيئاتها حيث تجعلها اكثر قابلية للنشاط الميكروبى كما ان ميكروبات الاراضى التى تموت نتيجة للتجفيف تعتبر موادا عضوية سريعة التحلل بواسطة الميكروبات عند اعادة الترطيب .

اما زيادة الرطوبة عن الدرجة اللازمة (٥٠ - ٧٠ ٪ من WHC) فانه يحدث تأثيرا عكسيا حيث تقل درجة التهوية لحد كبير مما يكون له انعكاسا ضارا على النشاط الميكروبيولوجى فى الارض ، ويتجه التوازن الميكروبى لصالح الميكروبات اللاهوائية التى تنشط محللة المواد العضوية تحللا غير كامل منتجة مركبات وسطية قد تكون سامة للنباتات ، كما تختزل املاح النترات والكبريتات والفوسفات وتتحول الى صور غير صالحة لتغذية النبات . وذلك علاوة على نمو البروتوزوا فى الطبقة السطحية من التربة الغدقة وتتغذى على البكتريا النافعة وتسمى التربة فى هذه الحالة بالارض المريضة Sick soil .

ويجب أن نلاحظ ان وجود نسبة عالية من الاملاح فى الماء الارضى كما فى الاراضى الملحية يجعل الماء غير ميسر للميكروبات نتيجة الضغط الاسموزى العالى ويعتبر هذا احد العوامل الرئيسية التى تؤدى الى قلة النشاط الميكروبى فى الاراضى الملحية .

٤) الهواء الارضى Soil air :

من المعروف أن مسام الارض تملأ بالماء او الهواء بنسب مختلفة حسب نسبة الرطوبة فيها . وفى اغلب الاراضى تمثل المسامية Pore space حوالى ٥٠٪ من الحجم الكلى للارض كما تؤثر العمليات الزراعية ونوع النبات النامى على مسامية الارض .

ومسامية الارض مختلفة فى الاحجام ويلاحظ أنه فى المسام الصغيرة جدا لاتستطيع الاحياء الدقيقة الكبيرة الحجم نسبيا كالفطريات القيام بالنمو الامثل فيها . وكما هو معروف فأن نسبة الهواء للماء فى المسام تتوقف على درجة الرطوبة .

ومن ناحية تركيب هواء التربة فأنه يختلف عن تركيب الهواء الجوى العادى فالهواء الارضى مشبع ببخار الماء ومحتواه من CO_2 أعلى كثيرا عن الهواء الجوى ومحتواه من O_2 اقل ويرجع ذلك للنشاط البيولوجى فيها كما يحتوى الهواء الارضى على نسب من الامونيا والميثان علاوة على بعض المركبات المتطايرة ويحدث باستمرار تبادل للغازات بين هواء الارض والهواء الجوى حيث يدخل فى الارض الاكسوجين ويخرج CO_2 وهذا التأثير يكون اوضح فى الطبقات العليا عن السفلى .

ومعدل حدوث التبادل بين الهواء الجوى وهواء التربة يتأثر بعوامل كثيرة فكلما كان قوام التربة خفيفا كلما كان معدل التبادل اسرع كما ان معدل التبادل يزداد فى الاراضى التى تتغير فيها نسبة الرطوبة باستمرار . ويزداد معدل التبادل ايضا فى المناطق التى تختلف فيها درجات الحرارة كثيرا بين الليل والنهار مما يؤدى الى حدوث تمدد وانكماش مستمر فى هواء التربة . كما يزداد معدل التبادل فى حالة وجود رياح قوية وغيرها من العوامل .

وتختلف ميكروبات الاراضى فى مدى تأثرها بالتغيرات التى تحدث فى تركيب هواء التربة فالبكتريا الهوائية الحتمية Strict aerobes لاتنمو فى غياب الاكسوجين بينما الميكروبات اللاهوائية الحتمية Strict anaerobes لاتنمو فى وجود الاكسوجين وهناك مجموعة اخرى من الميكروبات تفضل النمو فى وجود نسبة قليلة من الاكسوجين Micro-aerophilic وهذه المجموعة واسعة الانتشار فى التربة وتتضمن Streptococcus Like organisms وبعض الـ Actinomycetes ، اما الميكروبات الاختيارية فأن تأثيرها بوجود او غياب الاكسوجين محدود .

ويتغير النشاط البيولوجى فى التربة من الهوائى الى اللاهوائى عندما يقل الـ Oxygen tension من ٣ x ١٠$^{-٦}$M . ولقد اوضحت الدراسات انه فى تجمعات حبيبات التربة ذات القطر الاكبر من ٣ سم بأنها لاتحتوى على اكسوجين فى وسطها عندما تكون مشبعة بالماء حتى لو كانت محاطة بالهواء، وهذا يخلق فى التربة Micro-environment لا هوائى يسمح للميكروبات اللاهوائية بالنمو الجيد .

ويجب ان نلاحظ ان سيادة الظروف اللاهوائية لها تأثير سيء على النشاط البيولوجى عامة حيث ان الميكروبات الهوائية تمثل النسبة العالية من ميكروبات الاراضى كما وان كثيرا من العمليات البيولوجية الهامة لخصوبة التربة والمرتبطة بنمو النبات تتوقف كما يتراكم فى التربة كثير من المركبات غير المرغوبة .

ويؤدى نقص الاكسوجين وسيادة الظروف اللاهوائية الى جعل عمليات التحلل ابطأ والاكسدة غير كاملة للمركبات العضوية فتتراكم الاحماض العضوية والكحولات ، H_2 ، CH_4 كما تتكون الكبريتيدات Sulphides وتتحول مركبات الحديديك الى حديدوز وتتوقف بعض العمليات البيولوجية الهامة كالتأزت واكسدة الكبريت وغيرها .

وعلاوة على تأثير نقص التهوية على محتوى الاكسوجين وماله من تأثير على الميكروبات فأن تراكم CO_2 فى هواء التربة يعتبر عاملا مؤثرا هاما فأن لنسبة CO_2 ثلاث تأثيرات رئيسية على ميكروبات التربة وهى :

أ - تأثيرها على الـ pH في الوسط الدقيق للميكروبات Microhabitat

ب - يعتبر CO_2 مصدر الكربون الوحيد للميكروبات الـ Autotrophic

جـ - قد يكون لها عند تركيزات معينة تأثير مثبط على بعض الميكروبات ، ففي بعض الاحوال لوحظ ان زيادة CO_2 في التربة سيئة التهوية له تأثير ضار على الفطريات أشد من أثر نقص الاكسوجين .

٢ـ نظرة عامة على احياء الاراضى الدقيقة

تحتوى التربة على انواع عديدة من الاحياء منها الاحياء الدقيقة وغير الدقيقة وسنركز هنا فى دراستنا على الاحياء الدقيقة .

ان اعداد الاحياء الدقيقة فى الارض الخصبة ضخم جدا وتتضمن هذه الاحياء انواعا عديدة بينها وبين بعضها صورا مختلفة معقدة من العلاقات التعاونية والتنافسية واعداد الميكروبات فى الارض فى تغيير مستمر ولهذا فهو يعطى صورة ديناميكية للنشاط البيولوجى فى الاراضى،ولكن بالرغم من التغيرات المستمرة فى اعداد وانواع الميكروبات فمن الملاحظ انه تحت الظروف الثابتة فى الارض التى لم تتعرض لمؤثرات خارجية Undisturbed Soil فأن لكل ارض مجموعة ميكروبية متميزة تميزها عن غيرها،وهذه المجموعة الميكروبية عبارة عن محصلة العوامل المختلفة السائدة فى هذه الارض مثل الصفات الطبيعية والكيماوية لها ومحتواها من العناصر الغذائية والوسط النباتى النامى فيها ووجود ظروف ضارة بالنشاط البيولوجى والظروف الجوية والبيئة المحيطة بها .

وتحتوى الارض الطبيعية على جميع المجموعات الميكروبية الرئيسية وهى البكتريا Bacteria والاكتينوميسيتات Actinomycetes والفطريات Fungi والطحالب Algae والبروتوزوا Protozoa والفيروسات Viruses وسنحاول فى الجزء التالى اعطاء فكرة مختصرة عن انتشار واعداد واهمية هذه المجموعات الميكروبية فى الاراضى .

١) البكتريا : Bacteria

من بين المجموعات الميكروبيولوجية السابقة الذكر تعتبر البكتريا اكثرها وجودا سواء من ناحية الاعداد او عدد الاجناس والانواع والنشاط كما تعتبر البكتريا اكثرها اهمية فى التغيرات الحيوية التى تحدث فى الاراضى خصوصا فى الاراضى المتعادلة او المائلة قليلا للقلوية مثل اراضينا .

ومن ناحية اعداد البكتريا فى الارض فأن اعدادها تختلف كثيرا فى الارض الواحدة حسب الطريقة المستخدمة فى تقدير الاعداد،كما ان طرق اخذ العينات والاعماق التى تؤخذ منها بل ووقت اخذ العينات تؤثر كثيرا فى التقديرات الميكروبيولوجية لاعداد ونشاط بكتريا الارض .

ومن الوجهة الميكروبيولوجية فأن الارض تعتبر وسطا غير متجانس بشكل كبير وتمثل هذه الاختلافات الكبيرة فى المواقع الدقيقة لنمو الميكروبات Micro-habitat مناطق مختلفة

للنشاط الميكروبي تختلف في ظروفها الطبيعية والكيماوية والغذائية اختلافا كبيرا ، لذلك فأن الاختلافات الايكولوجية في توزيع البكتريا في التربة كبيرة جدا، ولكن هذه الاختلافات لا يمكن ملاحظتها الا باستخدام طرق فحص خاصة تدرس بها الميكروبات في موضعها الطبيعي بأقل قدر ممكن من التغيير في الوسط وتعتبر مثل هذه الدراسات هامة لحد كبير في التعرف على توزيع الميكروبات في الارض ولكنها لا تعطى صورة واضحة عن الخواص الفسيولوجية لهذه الميكروبات واحتياجاتها الغذائية والتغيرات البيولوجية التي تحدثها في الارض .

ونظرا لصعوبة الحصول على صورة متكاملة للعلاقات والانشطة المختلفة لبكتريا التربة فلقد تعددت طرق الدراسة وتنوعت لتناسب الاغراض المختلفة وعادة فأنه من الممكن تقسيم الدراسة الى :-

أ - طرق تقوم بدراسة النشاط البيولوجي في الاراضي بصفة عامة مثل دراسة معدل تحلل المواد العضوية او معدل تنفس الميكروبات - او قياس النشاط الانزيمي في الاراضي .

ب - طرق تقوم بدراسة اعداد وانواع ميكروبات الاراضي ومنها طرق ميكروسكوبية مباشرة وطرق مزرعية غير مباشرة . ويمكن بالطرق المزرعية دراسة الاعداد الكلية للمجموعات الميكروبية او يمكن دراسة المجموعات الفسيولوجية المتخصصة في الارض Functional physiological groups وذلك باستخدام بيئات غذائية مختلفة .

جـ - طرق تعتمد على دراسة قدرة الميكروبات على احداث تغيرات محددة مثل معدل المعدنة Mineralization rate والقدرة التثبيتية للنيتروجين الجوي وغيرها .

اعداد البكتريا وتوزيعها في الاراضي :

تختلف اعداد البكتريا كثيرا في الارض الواحدة حسب الطريقة المستخدمة في التقدير وعادة فأن الطرق الميكروسكوبية تعطى اعدادا اعلى بكثير من الطرق المزرعية ، وذلك لعدة اسباب منها ان الطرق الميكروسكوبية عادة لا تميز بين الميكروبات الحية والميتة مما يعطي اعدادا اكبر من الواقع ، بينما الطرق المزرعية تعطى اعدادا اقل من الواقع بكثير وذلك لجملة اسباب من اهمها انه يستحيل تحضير بيئة غذائية في المعمل تغطى كل الاحتياجات الغذائية لجميع الانواع الموجودة في الارض فهذه الميكروبات تختلف كثيرا في احتياجاتها الغذائية ، منها مايستطيع النمو على بيئات غذائية بسيطة ومنها ماله احتياجات غذائية شديدة التعقيد يصعب توفيرها في البيئة لتستطيع النمو ، كما ان ظروف التحضين وظروف البيئة الغذائية لا توفر انسب الظروف لكل الميكروبات التي تعيش في الارض . وبذلك لا ينمو في الدراسات المزرعية الا الانواع التي يناسبها الظروف المستخدمة في الدراسة . ومن الاسباب التي تجعل الدراسات المزرعية تعطى اعدادا اقل من الواقع ايضا اننا نعتبر كل مستعمرة ميكروبية نامية على اطباق العد انها ناتجة عن نمو خلية ميكروبية واحدة وطبعا الواقع غير ذلك فقد

تنمو المستعمرة من خلية واحدة او سلسلة من الخلايا او كتلة من الخلايا حسب ظروف وجود الميكروبات في معلق الارض .

والطرق الميكروسكوبية عادة ما تتميز عن الطرق المزرعية في انها تعطى صورة اكثر وضوحا لتوزيع البكتريا في الارض وخصوصا عند ما تستخدم هذه الطرق على الارض في موضعها الطبيعى in vivo ، ولقد اوضحت مثل هذه الدراسات ان البكتريا لا تتوزع بانتظام في كتلة التربة ولكنها عادة ما تتركز باعداد كبيرة مكونة من مستعمرات حول الحبيبات الصغيرة المعدنية والعضوية المكونة للتربة الزراعية وان تركيز البكتريا يكون اكثر حول الحبيبات العضوية عن المعدنية .

كما انه في وجود جذور النباتات فان البكتريا تتركز بشدة حول الشعيرات الجذرية وسطوح الجذور ، واتضح من ذلك ان البكتريا توجد في التربة في شكل مستعمرات منفصلة في اغلب الاحوال .

ومن الطرق الميكروسكوبية المباشرة ذات القيمة الكبيرة في دراسة توزيع بكتريا الاراضى تحت تأثير عوامل مختلفة طريقة الشريحة المدفونة Rossi-Cholodny, buried slide technique والطرق المعدلة عنها .

وتعتمد هذه الطريقة على دفن شرائح زجاجية نظيفة في الجزء من التربة المراد دراسته وتركها لمدد محددة ثم سحبها ودراسة المجموعات الميكروبية عليها ميكروسكوبيا وفى دراسات اخرى استخدم بدلا من هذه الشرائح المدفونة انابيب شعرية تدفن في التربة ثم تؤخذ على فترات وتدرس المستعمرات البكتيرية النامية داخلها (Porfiliev and Gabe, 1961)* ولقد افترض الباحثون ان هذه الانابيب الشعرية تشابه المسام الشعرية في الارض .

ولقد اظهرت مثل هذه الدراسات ان بكتريا التربة يحدث فيها اختلافات موسمية واضحة . فلقد اظهرت الدراسات التى اجراها (Aristavskaya, 1962)* مثلا في اراضى الـ Podzol ان البكتريا في الربيع يكون توزيعها منتظما نسبيا في التربة واغلبها من الانواع المتحركة وتظهر البكتريا العصوية والحلزونية بكثرة وايضا تظهر الـ Hyphomycrobia والـ Caulobacters اما في الصيف فان الـ Actinomycetes والعصويات القصيرة والكرويات تكون اكثر وضوحا .

ولقد امكن دراسة الميكروبات النشطة او المجموعات الميكروبية التى تتكون في ظروف معينة باستخدام تعديل لطريقة الشريحة المدفونة Buried Slide وفيه يدفن في التربة شرائح مغطاة بطبقة من مواد غذائية محددة ، كما امكن ايضا دراسة توزيع ونشاط

---

* c.a. Alexander, 1977.

بكتريا الاراضى بدفن قطعة من الوسط الذى تحلله الميكروبات مثل دفن قطعة من السليلولوز لدراسة بكتريا تحليل السيلوز ، كل هذه الدراسات مكنت العلماء من الحصول على معلومات كثيرة عن توزيع البكتريا بمجموعاتها المختلفة فى الاراضى .

اما من ناحية اعداد البكتريا فى التربة فقد اظهرت الدراسات الميكروسكوبية المباشرة والتى من اهمها طريقة Conn* وتعد بلاتها ان الاراضى الخصبة تحتوى على اعداد تصل الى ١٠ ⁹ /جم وتعتبر هذه الاعداد كبيرة جدا اذا ماقورنت بالنتائج التى تحصل عليها بالطرق المزرعية مثل العد بالاطباق Plate count حيث يتضح ان الاعداد بطريقة الميكروسكوب تكون فى المتوسط ١٠ أضعاف تلك المقدرة بالاطباق بل انها تصل الى ١٠٠ - ١٠٠٠ ضعف (Alexander, 1982) وذلك حسب الوسط الغذائى المستخدم فى العد بالاطباق وظروف الارض التى يجرى فيها العد .

اما من حيث تقدير اعداد بكتريا الاراضى بالطرق المزرعية فمن المعروف ان هناك طرقا مزرعية مختلفة تختلف حسب الغرض المستخدمة من اجله فمنها مايسمى بطريقة الاطباق Plate count وتختلف النتائج التى نحصل عليها حسب نوع الوسط الغذائى المستخدم وحسب الظروف المزرعية لذلك فمن المهم فى اى دراسة لاعداد ميكروبات التربة بالطرق المزرعية ان يذكر نوع البيئة الغذائية المستخدمة وتركيبها بدقة وظروف التحضين ومدته وذلك حتى يسهل مقارنة نتائج الدراسة بالنتائج التى يحصل عليها باحثون آخرون فى مناطق اخرى . وعادة ما يستعمل مستخلص التربة Soil extract فى البيئات المستخدمة فى تقدير العدد الكلى للبكتريا نظرا لما يحويه من املاح معدنية ومواد عضوية تشجع نمو الميكروبات .

وهناك طرق مزرعية يستخدم فيها بيئات غذائية منتقبة Selective media وهذه تفيد فى دراسة مجموعات البكتريا المتخصصة فسيولوجيا Functional physiological groups .

وعموما فأن اعداد البكتريا المقدرة بطريق الاطباق عادة ماتتراوح بين بضعة ملايين ومئات الملايين فى كل جرام من الارض الخصبة ، وان الاختلافات فى الاعداد بين ارض واخرى تمثل انعكاسا لخواص التربة والعوامل البيئية السائدة فى هذه الارض . وكما سبق ان ذكرنا فأن الاعداد التى تحصل عليها بالطرق المزرعية أقل من الواقع بكثير وقد بينت بعض الدراسات ان الطرق المزرعية لاتعطى اكثر من ١٠٪ من الميكروبات الموجودة فى التربة .

وعند حساب اعداد الميكروبات فى التربة فانها تنسب الى التربة الجافة وذلك لتسهيل المقارنة ، ويزداد اهمية الحساب على اساس التربة الجافة عند اجراء التقديرات فى الاراضى

---

* c.a. Waksman, 1952.

الغدقة فان اعداد الميكروبات تتضاعف عند حسابها على اساس الوزن الجاف . ونظرا لارتفاع نسبة الخطأ التجريبى فى الطرق المستخدمة فى تقدير اعداد الميكروبات فى التربة، والذى يرجع اساسا الى عدم التجانس الشديد فى التربة مما يسبب اختلافا كبيرا فى اعداد الميكروبات فى المواقع المختلفة فى التربة علاوة على اخطاء طرق العد نفسها ، فان الباحثين عادة مايهتمون بالاتجاه السائد لاعداد الميكروبات Trend اكثر من اهتمامهم بالقيم المطلقة للاعداد كما ان الكثير من النتائج يصعب تحليلها احصائيا .

وبصرف النظر عن الطريقة المتبعة فى التقدير فان اعداد البكتريا فى التربة ليست ثابتة باستمرار ، بل تتعرض لتغيرات واسعة . يحكم الاعداد فى التربة الواحدة عوامل كثيرة من اهمها المحتوى الرطوبى ودرجة الحرارة ونوع النبات النامى وعمره والمعاملات المختلفة التى تتعرض لها الارض من حرث وتسميد واستصلاح وغيرها ، علاوة على عدد كبير من العوامل المتداخلة . وبناء على ذلك اوضحت الدراسات التى اجراها عديد من العلماء ان اعداد البكتريا فى التربة تتعرض لتغيرات مستمرة واسعة فقد تتغير من يوم لآخر ومن وقت لآخر ومن فصل لآخر مما يجعل التربة وسطا ديناميكيا حيا كما لوحظت تغيرات موسمية واضحة فى بكتريا التربة(Waksman, 1952; Taha et al. 1967 and Alexander,1977) .

ان زراعة الاراضى وما يتبع ذلك من عمليات زراعية مختلفة وتسميد ونمو النباتات وتحلل للجذور فى التربة وافرازات هذه الجذور وبقاياها يؤثر تأثيرا واضحا على اعداد البكتريا فى التربة . ولقد لاحظ كثير من الباحثين ان التربة المنزرعة تحتوى على اعداد اعلى بكثير من التربة غير المنزرعة (Taha & Mahmoud, 1966 and Taha et al. 1967).

يتضح من كل ما سبق ان البكتريا توجد فى الاراضى الخصبة باعداد كبيرة جدا مما يوضح اهميتها كما انها اسرع نموا واكثأ فى التغيرات البيولوجية مما يعطى لها دورا رئيسيا بين احياء التربة المختلفة ولقد قدر ان البكتريا الموجودة فى التربة تمثل ٠١ر - ١ر٪ من الحجم الكلى للتربة .

تقسيم بكتريا الاراضى :

نظرا لوجود البكتريا باعداد وانواع كثيرة فى الاراضى فأنه من الصعب دراسة التغيرات التى تحدثها هذه الانواع المختلفة وتقييم دورها فى التربة دون تقسيمها الى مجموعات تسهل الدراسة. وتعتبر اول محاولة لتقسيم بكتريا التربة تلك التى قام بها العالم (Winogradsky, 1925)* على اساس النواحى الايكولوجية (البيئية) ، حيث تسم بكتريا الارض الى ثلاث اقسام رئيسية هى : متوطنة Autochthonous organisms وهذا القسم يمثل المجموعة البكتيرية الخاصة لكل تربة (Indigenous organisms) وتتميز بأن انتشارها فى التربة لا يتعرض لتغيرات كثيرة وتحصل على احتياجاتها الغذائية من المادة العضوية الموجودة اصلا فى التربة ولا تحتاج الى مصادر خارجية .

والمجموعة الثانية وهى (مخمرة) Zymogenous organisms او قد يطلق عليها Fermentative Organisms او قد يطلق عليها Allochthonous (Invaders organisms) ، وهذه المجموعة تتميز بنشاطها الواسع فى التغيرات البيولوجية والكيماوية التى تحدث فى التربة وعادة تكون اعدادها قليلة فى الظروف العادية ثم تنشط بشدة عندما يضاف الى التربة مصادر عضوية خارجية ، وعلى ذلك فأن هذه المجموعة تحتاج الى مصادر غذائية خارجية، واضافة هذه المصادر يؤدى الى تزايد اعدادها ثم تنخفض هذه الاعداد عند استهلاك المصادر العضوية الخارجية .

أما المجموعة الثالثة فتسمى Transient organisms وهذه المجموعة تمثل الميكروبات المنقولة والتى تجد طريقها الى التربة من خلال التلقيح أو العدوى مثل بكتريا العقد الجذرية التى تلقح بها النباتات البقولية ومثل البكتريا الممرضة للنبات .

تلى ذلك وضع عديد من التقسيمات على أسس مختلفة لتسهيل دراسة بكتريا التربة . منها التقسيم على اساس الصفات المورفولوجية Morphology (الشكلية) والتقسيم على اساس القابلية للصبغ بطريقة جرام Gram stain ، والتقسيم على اساس مصدر الطاقة ، والتقسيم على اساس الاحتياجات الغذائية ، واخيرا التقسيم الكامل على اسس من علم Texonomy لتعريف ميكروبات التربة الى اجناس وانواع طبقا لطرق التقسيم العلمى المعروفة .

وعموما يجب أن نشير الى ان الدراسات التقسيمية لبكتريا التربة اصعب بكثير من الدراسات التى تجرى فى الاوساط الطبيعية الاخرى وذلك اولا لتعقد العلاقات الميكروبية فى التربة وكثرة الانواع الموجودة بها ، وثانيا لان كثيرا من السلالات المعزولة من التربة بها اختلافات كبيرة عن الـ Type species بحيث تصبح عملية تعريف هذه الميكروبات Identification صعبة جدا مما يجعل كثيرا من الباحثين يتجهون الى استخدام الحاسبات الالكترونية فى تعريف ميكروبات الاراضى .

---

* c.a. Waksman, 1952.

تقسيم بكتريا التربة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة :

تتضمن البكتريا الموجودة فى التربة انواعا متباينة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة لذلك فأن التربة تحتوى على مختلف المجموعات الرئيسية المعروفة،وعلى ذلك يمكن تقسيم بكتريا التربة بالنسبة لمصادر الكربون والطاقة الى الاقسام الرئيسية المعروفة وهى :

أ - ميكروبات هيتروتروفيه Heterotrophic

(او تسمى عضوية التغذية Organotrophic) وتحصل على احتياجاتها من الكربون والطاقة من مصادر عضوية،وتمثل هذه المجموعة اغلب الميكروبات التى تعيش فى التربة وتقوم بعديد من التفاعلات الهامة فى تحلل المواد العضوية المعقدة وتحولها الى صور بسيطة جاهزة للنباتات مثل تحلل البروتينات Proteolysis والنشدرة ومعدنة الفسفور العضوى ، كما انها تلعب الدور الرئيسى فى تكوين الدبال Humus ، كما تنتج هذه الميكروبات اثناء تحللها للمواد العضوية احماضا تساعد على اذابة كثير من العناصر المعدنية غير الذائبة فى الارض وتجعلها قابلة للاستفادة بواسطة النباتات كما ان هذه المجموعة تحتوى على اهم انواع البكتريا المثبتة للنتروجين الجوى .

ب - ميكروبات اوتوتروفيه Autotrophic

(او تسمى معدنية التغذية Lithotrophic) وهى تحصل على الكربون اللازم لها من CO_2 ولاتحتاج الى مواد عضوية لنموها وتحصل على الطاقة من اكسدة مواد كيماوية قابلة للإكسدة او من التمثيل الضوئى وهذه المجموعة تنقسم الى قسمين :-

١ - Chemolithotrophic وهذه الميكروبات تحصل على الطاقة من اكسدة مواد كيماوية غير عضوية . وهذه الميكروبات لها اهمية كبرى فى التربة فمنها بكتريا التأزت Nitrifying bacteria وهى تقوم بأكسدة الامونيا المضافة للتربة او المتكونة فى عملية النشدرة الى نتريت (NO_2) Nitrite ثم الى نترات (NO_3) Nitrate كما ان منها بكتريا اكسدة الكبريت وهى تؤكسد S, H_2S ومركبات الكبريت المختزلة الاخرى الى كبريتات SO_4 كما ان من هذه المجموعة ايضا بعض انواع بكتريا الحديد .

٢ - Photolithotrophic وهى البكتريا التى تحصل على الطاقة اللازمة لها من عملية التمثيل الضوئى واهميتها محدودة فى الطبقة السطحية من الارض وفى وجود رطوبة عالية .

وطبقا لآخر طبعة من تقسيم البكتريا والتى صدرت عام ١٩٨٤ (Bergey's Manual of systematic Bacteriology) فقد وضعت البكتريا الممثلة للضوء جميعها فى

المجلد الثالث (Volume 3) والذى يضم البكتريا ذات الصفات غير العاديـــــة (Bacteria with unusual properties) حيث وضعت فى قسمين هما :

أولا : البكتريا الممثلة للضوء غير الاكسوجينية :-

وهى البكتريا الممثلة للضـوء Anoxygenic phototrophic bacteria التى لاتنتج اكسوجينا عند التمثيل الضوئى وهذا القسم يضم رتبة واحدة هى رتبـــــــــة Rhodospirillales وهذه الرتبة تنقسم بالتالى الى مجموعتين رئيسيتين هـما :

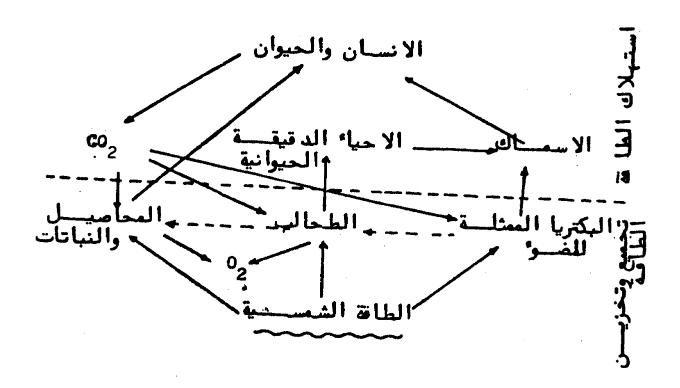
أ - البكتريا الارجوانية Purple phototrophic bacteria وتضم عائلــتين هما Rhodospirillaceae وهى عائلة البكتريا الارجوانية غير الكبريتيـــــة ويتميز افراد هذه العائلة بانها تستطيع استخدام المواد العضوية ايضا كمصادر للكربون والطاقة فى غياب الضوء ، اما العائلة الثانية فهى Chromatiaceae وهى عائلـــة البكتريا الارجوانية الكبريتية وهى تستخدم H_2S او الكبريت كمستقبل للالكترونات فـــى التمثيل الضوئى وفى حالة استخدامها لـ H_2S يترسب الكبريت الناتج عن الاكـــــدة داخل الخلايا حيث يتم اكسدته الى كبريتات فى مرحلة ثانية .

ب - البكتريا الخضراء Green phototrophic bacteria وهذه تضم عائلتين ايضا هما Chlorobiaceae وهى البكتريا الخضراء الكبريتية وتستخدم H_2S كمستقبل للالكترونات فى التمثيل الضوئى حيث يتم ترسيب الكبريت الناتج عن الاكـــــدة خارج الخلايا قبل أن تتأكسد الى كبريتات فى مرحلة ثانية . اما العائلة الثانية فهـى Chloroflexaceae وهى عائلة البكتريا الخضراء غير الـكبريتية وهى تضم كائنــــات تستطيع استخدام المواد العضوية (Photcorganotrophic) .

ثانيا : البكتريا الممثلة للضوء الاكسوجينية Oxygenic phototrophic bacteria :

وهذه هى التى كانت تسمى باسم الطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae (Cyanobacteria) وهذه سوف تناقش مع موضوع الطحالب من باب تسهيل الدراســــة فقط .

اما من ناحية دور البكتريا الممثلة للضوء فى الطبيعة وفى التربة فانه من الصعــــــــب تحديده بدقة . ولكن هذه البكتريا واسعة الانتشار فى التربة وفى المياه وفى البحــــــار وبالتالى فان لها دورافى تمثيل الكربون العضوى من خلال عملية التمثيل الضوئى،وعلى هـــذا فيمكن القول بانها تقوم بتجميع وتخزين الطاقة مثلها مثل النباتات والطحالب كما يلاحظ ان البكتريا الكبريتية الممثلة للضوء يمكنها فى نفس الوقت اكسدة مركبات الكبريت المختزلة فــــى البحار والتربة . ويوضح شكل رقم (٢-١) موقع هذه المجموعة من الاحياء بين الكائنــات التى تعمل على تجميع وتخزين الطاقة فى الكون .



شكل (٢-١) : رسم توضيحي يبين دور البكتريا الممثلة للضوء فى الطبيعة

اما من ناحية الدراسات التقسيمية الاخرى التى اجريت على بكتريا التربة فقد بينت هذه الدراسات ان الميكروبات العصوية سواء السالبة او الموجبة لجرام اكثر وجودا فى اغلب الاراضى مقارنة مع البكتريا الكروية . ومن ناحية اجناس البكتريا السائدة فى التربة فان توزيع هذه الاجناس تختلف كثيرا حسب نوع التربة وظروفها الطبيعية والكيماوية والبيئية،وعموما فأن هناك بعض الاجناس التى لوحظ وجودها فى الاراضى المختلفة بنسب عالية ، فمثلا لوحظ ان جنس Bacillus يوجد بنسبة عالية فى التربة حيث تتراوح نسبته بين ٥ - ٢٠ ٪ من الميكروبات الكلية وقد بينت بعض الدراسات ان هذا الجنس يوجد بنسب اعلى من ذلك فى المناطق المرتفعة الحرارة ، فقد تبين مثلا ان نسبته تصل الى ٤٠ ٪ فى بعض الاراضى المصرية فى فصل الصيف.

ومن الاجناس الواسعة الانتشار فى الاراضى جنس Arthrobacter فقد لوحظ بنسب عالية تصل الى ٥-٣٥ ٪ من المستعمرات التى تظهر فى اطباق العد،كما لوحظ وجود بعض الانواع التابعة لجنسى Corynebacterium, Pseudomonas بنسبة عالية فى التربة .

كما تبين وجود نسب لا بأس بها من الانواع التابعة للاجناس التالية بالتربة :

Mycobacterium, Clostridium, Enterobacter, Escherichia, Micrococcus, Flavobacterium, Agrobacterium, etc.

البكتريا المحبة للملوحة Halophilic (Salt-loving) bacteria :

نظرا لاختلاف نسبة الملوحة كثيرا من تربة لاخرى وفى انواع مياه الرى المختلفة فقد اهتم العلماء بدراسة البكتريا المحبة للملوحة والمقاومة لها ودور هذه البكتريا فى الاراضى. وتشمل البكتريا المحبة للملوحة مجموعة من الكائنات المجهرية التى لها القدرة على النمو فى - او تحتاج الى - تركيزات عالية من المحاليل الملحية ، وعدم توفر تلك التركيزات العالية من الاملاح يؤدى الى تحلل جدر الخلايا الخارجية لهذه الميكروبات ثم انسياب محتوياتها الداخلية وموتها .

وتشمل تلك المجموعة من البكتريا الاقسام التالية :

١ - بكتريا محبة للملوحة المرتفعة Extreme halophiles وهى لا تنمو الا فى محاليل ملحية ذات تركيز ٥ر٢ مولر او اكثر من ص كل (اى اكثر من ٢٠ ٪ Na Cl) .

٢ - بكتريا محبة للملوحة المتوسطة Moderate halophiles وهى تنمو فى محاليل ملحية ذات تركيز ص كل يتراوح ما بين ٥ر٠ - ٥ر٣ مولر (اى حوالى من ٣ - ٢٠ ٪ NaCl) .

٣ - بكتريا متحملة للملوحة Halo tolerant وهى لا تحتاج فى نموها الى ملح ، ولكنها تستطيع ان تنمو فى محاليل ملحية تحتوى على تركيز من ص كل حتى ١٠ ٪ او اكثر. وبالاضافة الى البكتريا المحبة للملوحة ، فأنه يوجد كائنات مجهرية اخرى ، مثل بعض افراد من بكتريا الكبريت والخمائر والفطريات والطحالب الخضراء التى تعيش فى محاليل شديدة الملوحة .

والبكتريا المحبة للملوحة تشمل مجموعة من الكائنات المتعددة الصفات وطبقا لتقسيم برجى سنة ١٩٨٤ فان البكتريا المحبة للملوحة المرتفعة (التى تحتاج الى ١٧ - ٢٣ ٪ ملح لنموها) ، توصف بانها سالبة لجرام وأشكالها تتراوح بين عصوية الى قرصية (جنس Halobacterium) اوكروية (جنس Halococcus) ومستعمرات البكتريا المحبة للملوحة تظهر حمراء أو برتقالية ويرجع ذلك لاحتواء الخلايا على مواد كاروتينية Carotenoids وهذه تعمل على حماية الخلايا من ضوء الشمس .

وعند نمو هذه البكتريا فى تركيزات عالية من الملح فانها تقاوم التعرض للجفاف بان تحوى الخلايا داخلها على ضغط اسموزى مرتفع ناتج عن KCl كما أن انزيماتها تنشط فى وجود تركيزات الملح المرتفعة .

وتتميز البكتريا التابعة لجنس Halobacterium بانها ليس لها الجدار الخلوى الطبيعى المميز للبكتريا العادية ولكنه مكون من وحدات من البروتين وهذه الوحدات

البروتينية تبقى مرتبطة مع بعضها طالما بقيت الخلايا فى محاليل مرتفعة الاسموزية، ولكنها تتفكك اذا وضعت الخلايا فى محاليل اقل من ١٠ ٪ NaCl مما يؤدى الى تحلل الخلايا نفسها . اما جنس Halococcus فان جدره الخلوية تتكون من معقد من السكريات غير المتجانسة Heteropolysaccharide وهو يبقى متماسكا حتى فى التركيزات المنخفضة من الملح .

وتتميز البكتريا المحبة للملوحة بان لها نظم خاصة لانتاج الطاقة لاتوجد فى الكائنات الاخرى ، وليس هنا مجال مناقشة هذا الموضوع .

تنمو البكتريا المحبة للملوحة ببطء نسبى من الخلايا البكتيرية العادية ، بمتوسط عمر جيل قدره من ٧ - ١٥ ساعة وحرارتها المثلى حوالى ٣٧°م او أعلى ، وفى البيئة المحتوية على التركيزات المناسبة من ص كل والتركيزات المناسبة من $KCl, Mg\ SO_4$ فان الخلايا تستمر حية لحوالى اسبوع .

توجد البكتريا المحبة للملوحة فى المياه المالحة ، كالبحيرات المالحة الكبرى فى امريكا والبحر الميت بالاردن ، وعلى شواطىء البحر حيث يحدث تركيز لمياه البحر بالتجفيف ، وكذلك توجد فى الاراضى الملحية Saline soils وايضا فى الاراضى شديدة الملوحة والقلوية مثل اراضى ومستنقعات وادى النطرون . كما توجد فى الاغذية المملحة كاللحوم والاسماك حيث تسبب فسادها وتلون اسطحها .

انواع البكتريا الاخرى :

بينت الدراسات ان التربة تحتوى على عديد من مجموعات البكتريا التى تتميز بصفات خاصة والتى وصفت فى تقسيم (Bergey, 1984) ضمن البكتريا ذات الصفات غير العادية Bacteria with unusual properties . من بين هذه البكتريا ما يسمى بالبكتريا الزاحفة المكونة للاجسام الثمرية Gliding fruiting bacteria

وهذه البكتريا تتميز بان خلاياها الخضرية مرنة وتتحرك حركة زاحفة على الاسطح الصلبة تاركة مادة لزجة خلفها،لهذا فكثيرا ما يطلق عليها اسم البكتريا اللزجة . واطلق على الرتبة التى تتبعها هذه البكتريا بالتالى اسم Myxobacteriales . وكثير من الاجناس التابعة لهذه الرتبة تكون اجساما غير ثمرية تختلف فى شكلها ودرجة تعقيدها من جنس لآخر كما ان بعضها تكون دورة حياة معقدة لحد كبير كما فى النوع *Stigmatella aurantiaca* .

كما تضم التربة عديد من انواع البكتريا الزاحفة التى لاتكون اجساما ثمرية، وهذه المجموعة ذات اهمية خاصة حيث تضم انواعا مؤكسدة لمركبات الكبريت المختزلة مثل الانواع التابعة لاجناس Beggiatoa ، Thiothrix كما تضم انواعا لها قدرة عالية على تحليل

السليلوز والهيميسليولوز في التربة واكوام السماد العضوي مثل اجناس Cytophaga ، Sporocytophaga . كما أن من البكتريا اللازجة أنواعا لها القدرة على اذابة خلايا البكتريا الحقيقية والتغذي عليها ، لذلك فانها تعتبر عاملا محددا لانتشار البكتريا بالاراضي .

كما تحتوي التربة على انواع من البكتريا المغلفة Sheathed bacteria وهي تتميز بان سلاسل البكتريا محاطة بأغلفة من مواد عضوية أو من اكاسيد الحديد او المنجنيز ومن الاجناس الهامة التابعة لهذه المجموعة جنس Sphaerotilus وهو منتشر في المياه الملوثة كما ان له دور في دورة الحديد .

وتوجد في التربة ايضا امثلة للبكتريا ذات الزوائد Stalked bacteria (e.g. Caulobacter) والبكتريا المتبرعمة Budding and/or appendaged bacteria ، والزائدة Prostheca عبارة عن امتداد للجدار الخلوي (الغشاء السيتوبلازمي) ، ومنها تكون ساقا Stalk وهو عبارة عن مادة غير حية تفرزها الخلايا مكونة امتدادا انبوبيا للخلية .

الكثير من هذه الانواع يتكاثر بالتبرعم ، ومن بين الاجناس المتبرعمة يعتبر جنس Hyphomicrobium من اكثرها انتشارا في الاراضي .

٢) الاكتينوميسيتات Actinomycetes :

بالرغم من فصل هذه المجموعة في قسم مستقل عند دراستها الا انه يجب ان نعرف ان هذا الفصل ليس له اساس من علم التقسيم Taxonomy ، فهذه المجموعة في الحقيقة تتبع البكتريا ولكنها تدرس منفصلة لاهميتها الخاصة وسعة انتشارها ودورها الهام في التربة .

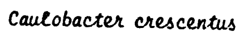
وطبقا لتقسيم (Bergey, 1984) فقد وضعت في المجلد الرابع الذي يضم البكتريا الموجبة لجرام الخيطية ذات الشكل المعقد Gram-positive filamentous bacteria of complex morphology.

وهذه المجموعة الهامة تنقسم الى اربعة اقسام رئيسية هي :

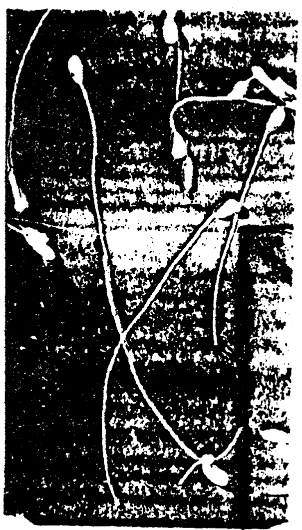
١ _ البكتريا الخيطية التي تنقسم في اكثر من مستوى واحد
filamentous bacteria that divide in more than one plane

٢ _ البكتريا الخيطية التي تكون حافظة جرثومة حقيقية
filamentous bacteria that form true sporangia





Caulobacter crescentus



Hyphomicrobium sp.

شكل (٢-٢) : البكتريا ذات الزوائد

(From Klug & Reddy, 1984)

٣ - الاستربتوميسيس والاجناس الشبيهة

Streptomyces and similar genera

٤ - البكتريا الخيطية الاخرى غير المستقرة تقسيميا Additional filamentous bacteria having uncertain taxonomy

وهذه المجموعات الاربع تختلف كثيرا فى مدى وجودها وانتشارها فى الاراضى وبالتالى دورها فى العمليات الحيوية التى تتم فى التربة :

١ - **المجموعة الاولى** وهى تضم البكتريا الخيطية التى تتكاثر بانقسام الخيط طوليا وعرضيا مكونة كتلة من الخلايا كروية او مكعبة الشكل . وهذه تضم ثلاثة اجناس هى :

أ - Dermatophilus وليس له دور فى التربة حيث انه بكتريا مرضية تسبب امراضا جلدية للحيوانات .

ب - اما الجنس الثانى فهو Geodermatophilus وهو من ميكروبات التربة وان كان دوره فيها غير واضح للآن .

جـ - اما الجنس الثالث وهو Frankia فانه اهم اجناس هذه المجموعة من وجهة نظر ميكروبيولوجيا التربة حيث انه يمثل البكتريا المكونة للعقد الجذرية المثبتة للنتروجين الجوى فى النباتات غير البقولية وهذا الميكروب له دور هام فى خصوبة التربة خصوصا فى اراضى الغابات ، كما انه يقوم بدور بيئى هام وسوف يناقش ذلك فى موضع آخر .

٢ - **المجموعة الثانية** وهى التى تكون حافظة جرثومية حقيقية Sporangium ، وهذه المجموعة تتميز بتكوين حوافظ جرثومية محمولة على الهيفات الهوائية وتحمل بداخلها جراثيم اسبورانجية . والانواع التابعة لهذه المجموعة تعيش فى التربة وخصوصا الانواع التابعة لجنس Actinoplanes التى تتميز بقدرتها على بلمرة الاحماض الامينية مكونة مضادات حيوية عديدة الببتيدات Polypeptide antibiotics ، كما ان منها انواع تكون مضادات حيوية من النوع المحتوى على حلقات عطرية aromatic polycyclic antibiotics .

٣ - **المجموعة الثالثة** وتضم جنس Streptomyces والاجناس الشبيهة، وهى اهم المجموعات الاربعة واكثرها انتشارا فى الطبيعة ويرجع لها اهمية الاكتينوميسيتات ككل ، وتتميز هذه المجموعة بقدرتها على تكوين ميسليوم حقيقى يحمل جراثيم كونيدية Conidia والتى عادة تحمل على هيفات هوائية . واهم الاجناس فى هذه المجموعة جنس Streptomyces وهو جنس ضخم يضم ٣٤٠ نوعا و ٣٩ تحت نوع Subspecies ، والانواع التابعة له واسعة الانتشار فى التربة وكثير من انواعه تستطيع تحليل المواد

المعقدة وله دور هام فى عمليات المعدنة كما ان له دور هام فى التوازن الميكروبى فى التربة من خلال القدرة العالية لعديد من انواعه على افراز المضادات الحيوية .

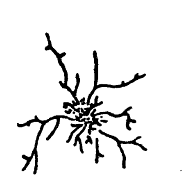
٤ - المجموعة الرابعة وهى تضم سبعة اجناس لم يستقر وصفها التقسيمى بعد ، وكثير من الانواع التابعة لهذه الاجناس تعيش فى التربة وتضم انواعا محبة للحرارة ولها دور فى تحلل اكوام السماد العضوى كما يضم انواعا محبة للاسموزية .

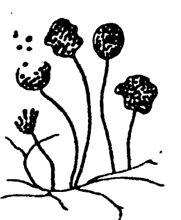
ويلاحظ انه طبقا لآخر ما استقر عليه تقسيم البكتريا فقد تم فصل عدة اجناس كانت طبقا لتقسيم (Bergey, 1974) تتبع الاكتينوميسيتات ولكنها فصلت عنها ووضعت مع البكتريا العصوية الموجبة لجرام العادية فى المجلد الثانى من تقسيم (Bergey, 1984) Ordinary gram-positive bacteria وهذه الاجناس هى Mycobacterium Actinomyces, Pseudonocardia, Nocardia

ومما سبق يتضح التشابه الكبير بين مجموعة الاكتينوميسيتات والفطريات من حيث تكوين الميسليوم الحقيقى وتفرعه وطريقة تكوين الجراثيم،وهذا جعل كثير من العلماء المشتغليـن بالفطر ينسبونها للفطريات .لكن التقسيم الحديث يضمها الى البكتريا وذلك للاسباب الاتية :

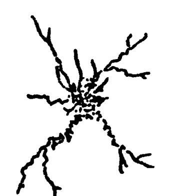
١ - قطر الهيفا مساو تقريبا لقطر خلية البكتريا .
٢ - تركيب الجدار الخلوى مشابه لحد كبير لتركيب جدار الخلية البكترية .
٣ - تركيبها الخلوى مشابه للبكتريا حيث ان خلاياها من نوع بدائيات النواة Prokaryotes
٤ - عدم احتوائها على غشاء نووى للنواة وكذلك ميتوكوندريا .
٥ - تركيب الفلاجات " ان وجدت " مشابه لفلاجات البكتريا .
٦ - بعض انواعها تكون جراثيما داخلية مقاومة للحرارة مثل البكتريا .
٧ - حساسة للـ Lysozyme .
٨ - بعض انواعها لها القدرة على تثبيت النيتروجين الجوى تكامليا مع جذور بعض النباتات غير البقولية ، وهذه صفة لاتوجد الا فى الخلايا البدائية النواة .

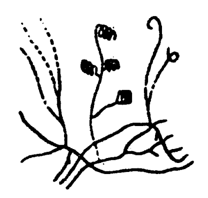
ويلاحظ ان نمو الاكتينوميسيتات فى البيئة السائلة لايسبب لها تعكيرا كما فى حالـة البكتريا ، ولكن يظهر النمو فى شكل تكتلات Clumps كما أن نموها على البيئة الصلبة يظهر فى شكل مستعمرات ذات قوام جامد وسطح دقيقى او ترابى ذو هيفات صغيرة ، وبعد تكـون الجراثيم فأن المستعمرات تصبح ملونة غالبا ، من الممكن ان تنمو الاكتينوميسيتات فى نفـس الاطباق التى يقدر بها عدد بكتريا التربة ، ولكن يفضل تنميتها على بيئات خاصة مناسبـة تحتوى مثلا على الكيتين ، وهو مادة صعبة التحليل بواسطة اغلب انواع البكتريا والفطريـات مع اضافة مواد مضادة للبكتريا antibacterial compounds والتحضين لمـدة اطول مما يستعمل فى حالة البكتريا .

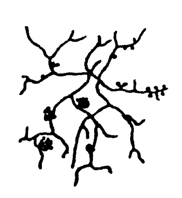

Actinomyces rothia
Agromyces gordona

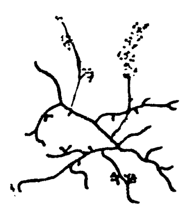

Actinoplanes

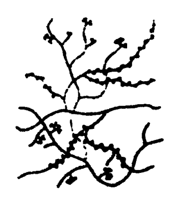

Dermatophilus

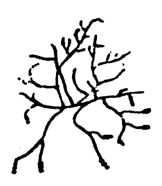

Nocardia


Streptomyces

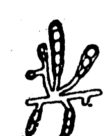
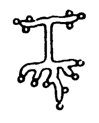
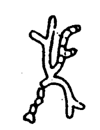
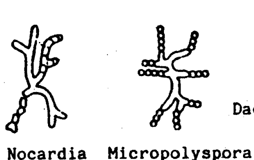

Micromonospora

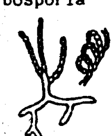
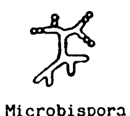
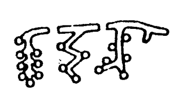
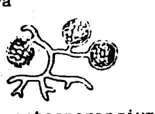

Thermomonospora


Thermoactinomyces


Micropolyspora

شكل رقم (٢-٢) : بعض أشكال الاكتينوميسيتس
(From Sykes & Skinner, 1973)

شكل رقم (٢ - ٤) : المجاميع الرئيسية للاكتينوميسيتات

(From Alexander, 1982). Major groups of actinomycetes.

وسبق ان اوضحنا ان مجموعة الاكتينوميسيتات تعتبر من ناحية علم التقسيم جزء من البكتريا،ولكن السبب فى وضعها منفصلة عند دراستها هو أن هذه المجموعة واسعة الانتشار فى التربة وعادة فأن اعدادها تلى البكتريا او تماثلها ، والاهم من هذا ان هذه المجموعة لها دور كبير فى العمليات الحيوية فى التربة فهى لها القدرة العالية على تحليل كثير من المواد العضوية التى تصعب على غيرها (Complex organic compounds) من الاحياء الدقيقة كما ان لها القدرة على تكوين نواتج ذات اهمية كبيرة فى العمليات الحيوية .

وبالرغم من أن هذه المجموعة معروفة منذ مدة طويلة الا انها جذبت الانتباه اليها بعد اكتشاف قدرة كثير من افرادها على انتاج المضادات الحيوية Antibiotics ذات اهمية كبيرة فى علاج الامراض. واعداد الاكتينوميسيتات كبيرة فى التربة وعادة ماتعد بطريقة الاطباق باستخدام بيئة غذائية خاصة ولكن يجب ان نلاحظ ان المستعمرات المتكونة يمكن ان تنتج عن كونيديا او جزء من الميسليوم لذلك فأن وجود ظروف فى التربة تساعد على تكوين الكونيديات يمكن ان تعطى اعدادا من الاكتينوميسيتات عالية بالرغم من ان نشاطها فى التربة فى هذه الظروف قد يكون محدودا ، وهذا ادى الى الرأى القائل بأن وجودها باعداد كبيرة لايمثل مدى نشاطها الحقيقى فى التربة .

وعموما فأن اعداد الاكتينوميسيتات فى التربة تختلف كثيرا حسب نوع التربة وظروفها الطبيعية والكيماوية وخصوصا نسبة المادة العضوية والـ pH والرطوبة والظروف المناخية السائدة . وتعطى طريقة الاطباق اعدادا تتراوح بين ١٠^{٥} - ١٠^{٨}/جم ونسبتها للعدد الكلى من ١٠ - ٧٠٪ .

وعادة ماتكون الاكتينوميسيتات اقل عددا فى المناطق الرطبة عن المناطق الجافة واعدادها اكبر فى مناطق الحشائش عن الاراضى المزروعة بالمحاصيل ، وهى اكثر انتشارا فى المناطق الحارة عن الباردة .

ويناسبها الاراضى المتعادلة التأثير ذات pH من ٥ر٦ - ٨ وتقل اعدادها بدرجة كبيرة فى الاراضى الحامضية ذات pH اقل من ٠ر٥ .

أما من ناحية دور ونشاط هذه المجموعة فى الاراضى فمن المعروف أن هذه المجموعة ابطأ فى نموها من البكتريا،وهذه الظاهرة لها اهميتها ففى حالة توفر ظروف ملائمة للنشاط الميكروبى فى التربة مثل اضافة مواد عضوية بها مواد سهلة التحلل ، يظهر التنافس بين ميكروبات التربة بوضوح ونظرا لبطأ نمو هذه المجموعة فأن قدرتها على التنافس تكون محدودة لذلك تقل اعدادها فى الفترات الاولى للتحلل ومع نقص المواد السهلة التحلل من المادة العضوية المضافة تبدأ اعدادها فى الزيادة وتصبح هى السائدة حيث تستفيد من قدرتها على تحليل المواد المعقدة .

والاكتينوميسيتات تستطيع استخدام مواد عديدة كمصدر للكربون والطاقة منها مركبات بسيطة ومركبات شديدة التعقيد فهى تحلل الاحماض العضوية والسكريات والبسيطة والمعقدة والليبيدات ، والهيدروكربونات الالفاتية Aliphatic hydrocarbons كما تحلل السليولوز والنشا والكيتين Chitin ،ويعتبر تحلل الكيتين صفة مميزة لمجموعة الاكتينوميسيتات كما تستطيع تحليل كثير من المواد الغريبة التى تصل الى التربة مثل Paraffins, phenols,steroids ومنها انواع قادرة على تحليل المبيدات . كما تستطيع هذه المجموعة استخدام عديد من المركبات النيتروجينية كمصدر للنيتروجين منها الامونيا والنترات والاحماض الامينية ، والبروتينات وطبعا فأنها قادرة على معدنة النتروجين العضوى .

وكما سبق ان اوضحنا فأن كثيرا من افراد هذه المجموعة قادرة على انتاج المضادات الحيوية ولقد اظهرت الدراسات ان $\frac{٣}{٤}$ عزلات جنس Streptomyces تفرز موادا تؤثر على نمو الكائنات الاخرى . وان كان دور هذه المضادات الحيوية فى التربة غير واضح حتى الان وسوف نناقش ذلك فى مكان آخر .

وعموما يمكن تلخيص الدور الذى تلعبه هذه المجموعة فى التربة فى الآتى :

١ - تحليل المواد المعقدة فى البقايا النباتية والحيوانية وتحويلها لصورة صالحة لتغذيـة النباتات .

٢ - تلعب دورا فى تكوين الدبال Humus عن طريق احداث تحولات فى المواد العضوية المضافة للتربة بل ان بعض السلالات تكون فى الاوساط الغذائية التى تنمو فيهــــا جزئيات حلقية Aromatic molecules والتى يفترض ان لها دورا فى تكويـن الدبال فى الاراضى .

٣ - تقوم بدور هام فى التحولات التى تحدث فى درجات الحرارة المرتفعة مثل التى تحـدث فى اكوام السماد العضوى النباتى والحيوانى .

٤ - بعضها تسبب امراضا نباتية مثل ، الجرب العادى فى البطاطس Common Potato scab الذى يسببه *Streptomyces scabies* .

٥ - تستطيع تجميع حبيبات التربة عن طريق هيفاتها مما يزيد من خصوبة التربة عن طريـــق تحسين تهويتها .

٦ - اعطاء التربة الرائحة الخاصة بها وذلك نتيجة لافرازها لمركب يسمى Geosmin .

٧ - قد يكون للمضادات الحيوية التى تفرزها دورا هاما فى التوازن الميكروبى فى التربة .

٨ - يكون جنس Frankia عقدا جذرية على النباتات غير البقولية تثبت النتروجين الجوى مما يمد هذه النباتات باحتياجاتها من هذا العنصر ويزيد من خصوبة التربة .

٢) الفطـــريات Fungi :

مع ان البكتريا اكثر الكائنات الحية عددا فى التربة ، الا انه نظرا لصغر حجم الخلية التى نادرا ما تزيد عن ٥ ميكروميتر فى الطول ، وكبر حجم هيفات الفطريات ، فأنه فى التربة جيدة التهوية المنزرعة قد تمثل الفطريات جزءا اكبر من الوزن الكلى للبروتوبلازم الميكروبــى وهذا يظهر بوضوح فى تربة الغابات مثلا عندما يكون ميسليوم الفطريات شبكة تتخلل التربـــة والمواد المتحللة . وعموما فأن الفطريات تسود فى الاراضى الحامضية .

ويوجد ميسليوم الفطريات فى التربة على شكل شبكة من الخيوط تتخلل حبيبات التربـــة وتربط الحبيبات مع بعضها ويظهر هذا بوضوح عند استخدام طرق فحص ميكروسكوبية خاصـــة او باستخدام طريقة الشريحة المدفونة Buried slide ولقد بينت الدراسات ان التربة الخصبة قد تحتوى ما بين ١٠ - ١٠٠ متر من خيوط الفطر لكل جرام مما يعطى ٢٠٠ - ٢٠٠٠ كجم / فدان .

وليست هناك طريقة واحدة لدراسة فطريات التربة يمكن ان تعطى صورة دقيقة لمدى انتشارها ونشاطها،ومن بين الطرق المستخدمة لتقدير فطريات التربة طريقة العد بالاطباق Plate count باستخدام بيئات خاصة . وتتعرض استخدام طريقة الاطباق لعد الفطريات فى التربة لنقد شديد،فالمستعمرات التى تظهر على الاطباق قد تنتج من جرثومة ساكنة او جزء من الميسليوم (وهو الجزء النشط من الفطريات)،وعلى ذلك فأن وجود انواع من الفطريات السريعة فى تكوين الجراثيم فى التربة ينتج عنه اعدادا كبيرة عند العد بالاطباق ، بينما فى تربة اخرى قد يكون النشاط الفطرى فيها عاليا جدا ولكن الانواع الموجودة لاتكون جراثيما فهذه تعطى اعدادا اقل . كما يلاحظ ان اطباق العد تظهر فيها بكثرة الفطريات ذات القدرة على تكوين الجراثيم مثل Penicillium ، Aspergillus بينما لا يظهر كثير من الفطريات غير القادرة على تكوين جراثيم بكثرة فى الاطباق،ومن ناحية اخرى فأن مدى عملية الرج عند العد يؤثر على العدد الناتج لأنه يؤثر على مدى تفتيت الهيفات وبالتالى على العدد الناتج فى الاطباق،حيث يلاحظ ان هيفات الفطريات المختلفة تختلف فى مدى قابلية هيفاتها للتفتيت مما يجعل النتائج تختلف حسب انواع الفطريات السائدة .

وقد يستخدم لتقدير الفطريات الفحص المباشر لمقطع التربة وهى فى حالتها الطبيعية (in Situ) ولكن تعقد الاجهزة وصعوبة الحصول على النتائج فى هذه الطريقة حد من استعمالها . اما طريقة الشريحة المدفونة فأنها تسهل دراسة الفطريات بحالة أقرب مايمكن من وسطها الطبيعى .

ومن الطرق المستخدمة لدراسة الفطريات ايضا فى التربة طريقة(Warcurp,1950)* وفيها يوضع ٥ - ١٥ ملليجرام تربة فى طبق بترى معقم ويصب عليها وسط غذائى مناسب ثم يلاحظ نمو الفطريات الناتجة . ومن الطرق المستخدمة ايضا استعمال انابيب زجاجية يوضع فيها وسط غذائى مناسب ثم يعمل ثقب فى التربة وتوضع فيه الانابيب وتترك لمدة اسبوع ثم تؤخذ وتفحص الفطريات النامية،وميزة الطريقتين السابقتين انهما لا يحدثان اى تفتيت للفطريات الموجودة فى التربة وبذلك لاتؤثر نسبة تكوين الجراثيم على الانواع التى نلاحظها وقد امكن بهذه الطريقة ملاحظة اجناس لم تشاهد بطريقة الاطباق العادية .

وعموما فان اعداد الفطريات بطريقة الاطباق تتراوح بين ٢٠,٠٠٠ - ١,٠٠٠,٠٠٠ / جم ويلاحظ ان نشاط وانتشار الفطريات فى التربة يتأثر بعوامل كثيرة فالفطريات كائنات هيتروتروفية Heterotrophic لذلك فأن أعدادها يتحكم فيها لحد كبير وجود مادة عضوية قابلة للاكسدة كمصدر للطاقة لهذه الميكروبات ، لذلك فعادة ماتوجد علاقة طردية بين اعدادها ونسبة الدبال فى التربة ، واضافة مادة عضوية للتربة لايؤثر فقط فى اعدادها ولكن يؤثر ايضا فى الانواع السائدة .

---

* c.a. Waksman, 1952.

ومن أهم العوامل المؤثرة على فطريات التربة درجة الحموضة فمن المعروف ان كثيرا من فطريات التربة يمكنها ان تنمو فى مدى اوسع من الـ pH ولكن نظرا لأن البكتريا والاكتينوميسيتات تكون أقل انتشارا فى الاراضى الحامضية فأن الفطريات تسود فى هذه الاراضى وهذه السيادة لاترجع فقط الى أن الظروف الحامضية ملائمة اكثر للفطريات ولكن ايضا لعدم وجود تناض بين الفطريات والاحياء الاخرى .

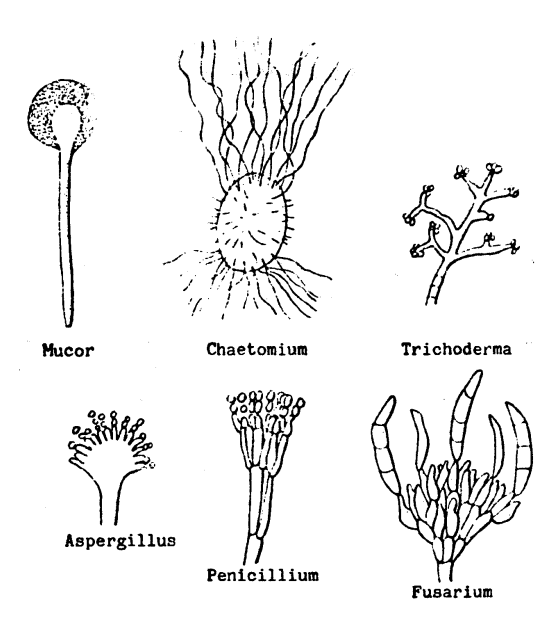
تؤثر درجة الرطوبة ايضا على مدى انتشار الفطريات فى الاراضى . فلقد وجد أن اضافة المياه للاراضى الجافة تزيد من نمو الفطريات ولكن يجب ان نلاحظ ان الفطريات عموما اكثر تحملا للجفاف عن البكتريا لذلك تكون نسبتها عالية فى الاراضى نصف الجافة ، ومن ناحية اخرى فأن الرطوبة العالية تؤثر على نمو الفطريات لما لها من تأثير عكسى على على التهوية خصوصا وان الفطريات هوائية فالفطريات تكون قليلة فى الاراضى الغدقة سيئة التهوية .

اغلب الفطريات محبة لدرجة الحرارة المتوسطة Mesophilic ولو ان هناك بعض السلالات المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic تسود فى اكوام السماد المتحللة مع ارتفاع درجة الحرارة والتى تلعب دورا هاما فى نضج السماد .

اما من ناحية انواع الفطريات السائدة فى الاراضى فهى تتبع الاقسام الرئيسية الثلاثة الآتية : Phycomycetes, Ascomycetes, Fungi Imperfecti والفطريات الناقصة اوسع فطريات التربة انتشارا ، والـ Phycomycetes اقلها انتشاراوان كان هناك انواع منها تتبع رتبة Mucorales واسعة الانتشار فى الاراضى .

ومن اجناس الفطريات واسعة الانتشار فى مختلف الاراضى Aspergillus, Penicillium, Cladosporium, Botrytis, Alternaria, Fusarium, Rhizopus, Mucor . اما بالنسبة لدور الفطريات فى الاراضى فمن المعروف ان الفطريات كائنات هيتروتروفية هوائية وتستخدم عديد من المواد العضوية كمصدر للكربون والطاقة مثل السكريات الاحادية والثنائية والمعقدة والاحماض العضوية والنشا والبكتين والسليولوز والدهون واللجنين Legnin وبعض هذه المواد لاتستطيع البكتريا تحليله كما تستخدم كثيرا من المواد النتروجينية البسيطة والمعقدة كمصدر للنتروجين . وعلى ذلك فالفطريات تلعب دورا هاما فى تحلل السليولوز والهيميسليولوز والبكتين فى الاراضى . كما يمكن ان تلعب دورا فى معدنة النتروجين العضوى ، أى انها تقوم بتحليل المواد المعقدة عموما ، ولها دور اساسى فى تكوين الدبال فى الاراضى .

ومن ناحية اخرى فأن فطريات التربة المرضية Soil-borne pathogenic fungi لها اهمية خاصة من ناحية امراض النبات ، وكثير من هذه الفطريات تعيش فى التربة مترممة وعندما تجد الظروف الملائمة تغزو العائل وتسبب المرض .



شكل (٢-٥) : الاجناس الفطرية السائدة في الاراضي .
Common genera of soil fungi.
(From Alexander, 1977)

السموم الفطرية Aflatoxins :

هي نواتج تمثيل غذائي ثانوية Secondary metabolites تفرزهـــا بعض الفطريات مثل :

Aspergillus flavus, A. parasiticus, Penicillium puberulum

ومن البذور التي تصاب بهذه الفطريات المنتجة للتوكسين ، بذور الفول السوداني ، وتتوقف كمية السموم المتكونة على الظروف البيئية خاصة درجة الحرارة ومدة التخزين .

وقد بدأ ملاحظة هذا النوع من التسمم في بريطانيا عام ١٩٦١ ، وذلك في الحيوانات والدواجن التي غذيت على علائق تحتوي على كسب فول سوداني ملوث بهذه الفطريات ، وقد وجد ان فطر *A. flavus* يكون ٦ أنواع من هذه السموم الفطرية أشدها تأثـــيرا الانواع المسماة B_1, B_2 .

ومما يذكر ان مادة 5, 7 dihydroxy flavon تثبط نمو هذا الفطر ، لذا يعمل مربوا النبات ، على انتاج فول سوداني يكون تركيزات مرتفعة من هذه المـــادة توقف نمو الفطر لتجنب مايفرزه من سموم .

الفطريات اللزجة Slime molds :

تنتشر هذه الانواع من الفطريات في اراضي الغابات بالمناطق الباردة خاصة فـــي المناطق الغنية بالمادة العضوية ، حيث يصل اعدادها الى عدة آلاف بالجرام الواحد مـــن التربة ومن الانواع السائدة Acrasis, Dictyostelium . وتمتاز هـــذه المجموعة من الفطريات بأنه في احد اطوار حياتها تكون طور اميبي اى يشبه الاميبا فـــي صفاته ، الذي يتحول الى اجسام ثمرية بداخلها الجراثيم التي تكمل دورة الحياة عنـــد تحسن الظروف البيئية بالوسط الذي تعيش فيه .

فطريات الميكورهيزا Mycorrhiza :

فى بداية الستينات بدأ التعرف على الجذور الفطرية المسماة Mycorrhiza (Fungus roots) ، حيث وجدت جراثيمها مع نماتودا مفصولة من تربة زراعية ، ومن ذلك الوقت بدأ الاهتمام بالميكورهيزا . وهى تمثل حالة تعاون فريدة بين الفطريات وجذور بعض النباتات الراقية ، فتقوم هذه الفطريات بعمل الشعيرات الجذرية على جذور نبات العائل حيث تساعد النبات على امتصاص الماء والغذاء والاملاح المعدنية مثل الفوسفور والكالسيوم والبوتاسيوم والنحاس والحديد .

وبذلك فأن هذه الجذور الفطرية تلعب دورا هاما فى حياة بعض النباتات خاصة اشجار الغابات التى تعتمد على هذه الفطريات فى التغذية Mycotrophy ، حيث لوحظ ضعف تلك الاشجار النامية عند غياب هذه الفطريات ، كما لوحظ ضعف شتلات اشجار الموالح النامية فى اراضى المشاتل المعاملة بالمبيدات الفطرية ، وهذا يشجع البعض على تلقيح التربة بالجذور الفطرية كما يحدث عند تلقيح ارض الموالح بفطر Endogone .

فطريات الميكورهيزا ، فطريات محدودة الموطن فهى توجد فقط حول جذور عوائلها ، وتعيش معها فى حالة تعاون ، وتأخذ الفطريات احتياجاتها الغذائية المعقدة من الاحماض الامينية والفيتامينات (مثل فيتامين B) من النبات العائل وبسبب تلك الاحتياجات الغذائية المعقدة فأنه لم تنجح زراعة بعضها فى بيئات صناعية حتى الآن ، حيث انها تعتبر Obligate symbiont .

وقد لوحظ ان فطريات الميكورهيزا تكثر حول جذور النباتات فى الاراضى الفقيرة فى الفوسفور والنتروجين ، كما انها تكثر عندما تحتوى جذور العائل على نسبة عالية من الكربوهيدرات الميسرة بزيادة نشاطه فى التمثيل الضوئى . وهذا يوضح ان النبات العائل يمد الفطر بالكربوهيدرات اللازمة لتمثيله وذلك بالاضافة الى مستلزمات الغذائية الاخرى من الاحماض الامينية والفيتامينات .

وتزيد فطريات الميكورهيزا من جاهزية الفوسفور للنبات بما تفرزه من انزيمات مثل الفوسفاتيز او بتشجيعها لجذور العائل لافراز الاحماض ، لذا التى تزيد من ذوبان الفوسفات .

العدوى :

تحدث عدوى جذور البادرات من الاشجار بالهيفات ، من النباتات المجاورة او الجراثيم الموجودة بالتربة او بتلقيح التربة او بزراعة شتلات سبق تلقيح ارض شتلها بالفطر المطلوب ، علما بأنه يوجد درجة من التخصص بين الفطر والنبات العائل .

ومن الطرق الشائعة فى تلقيح التربة بالميكورهيزا ، تلقيح ارض الشاتل المهيأة لزراعة العائل (بذور مثل الذرة أو أبصال مثل البصل والثوم) ، بتربة بها الفطريات المطلوبة للعائل بمعدل ١٠ ٪ من حجم تربة المشتل وتخلط بالطبقة السطحية لعمق ١٠ سم وذلك قبل زراعة بذور العائل . بعد نمو الشتلات ، تنقل بمجموعها الجذرى وما يحيط به من تربة الى المكان المستديم ، وبذلك يتهيأ وسطا مناسبا لنمو فطريات الميكورهيزا . وفى مثل هذه الحالات ، فأنه يفضل معاملة تربة المشتل بمبيدات الآفات المناسبة للتخلص من الكائنات الضارة لاعطاء المجال لنمو الميكورهيزا وتجنب نقل تلك الآفات الى الحقل المستديم.

ويمكن مشاهدة الميكورهيزا عند اخراج نباتات العائل بصلاياها من ارض المشتل ، فيلاحظ ان الجذور النامية حول الصلايا تكون محاطة بطبقة قطنية لونها اصفر (يتراوح من الفاتح الى الغامق حسب نوع الميكورهيزا) .

تبدأ الاصابة عندما يكون عمر النبات عدة اسابيع عندما تتفتح اوراقه الاولى ويزداد نشاطه التمثيلى .

وتمتد هيفات الفطر من جذور العائل فيما يشبه الشعيرات الجذرية ، كما تمتد هيفات الفطر الى داخل الجذور نفسها . ويمتاز فطر الميكورهيزا عن الفطريات الاخرى النافعة والضارة التى تصيب النباتات ، فى ان جزءا من ميسيليوم الميكورهيزا يبقى نشطا بالتربة بعد العدوى .

وفى حالة المعيشة التعاونية لفطريات الميكورهيزا فأنه يمكن تمييز جزئين مختلفين فسيولوجيا من الفطر فالجزء الممتد خارج جذور العائل يقوم بعمل الشعيرة الجذرية من حيث امتصاص الماء والمواد المعدنية ، بينما يقوم الجزء من الفطر الممتد داخل جذر العائل بتبادل المواد الغذائية .

تأثير الميكورهيزا على جذور العائل :

تسبب المعيشة التعاونية بين الفطر وجذر النبات تغيرات ميكروسكوبية ومورفولوجية وتشريحية فى جذر العائل، وتكون تلك التغيرات اوضح مايمكن فى الميكورهيزا الخارجية Ecototrophic Mycorrhiza حيث يتكون طبقات جديدة .

اما فى حالة الميكورهيزا الداخلية Endotrophic mycorrhiza فقد تسبب بالجذور زيادة طفيفة فى سمك طبقة القشرة Cortex وزيادة فى تفرع الشعيرات الجذرية الدقيقة مع تغير طفيف فى اللون الى اصفر محضر لافراز تلك الفطريات لصبغات خاصة .

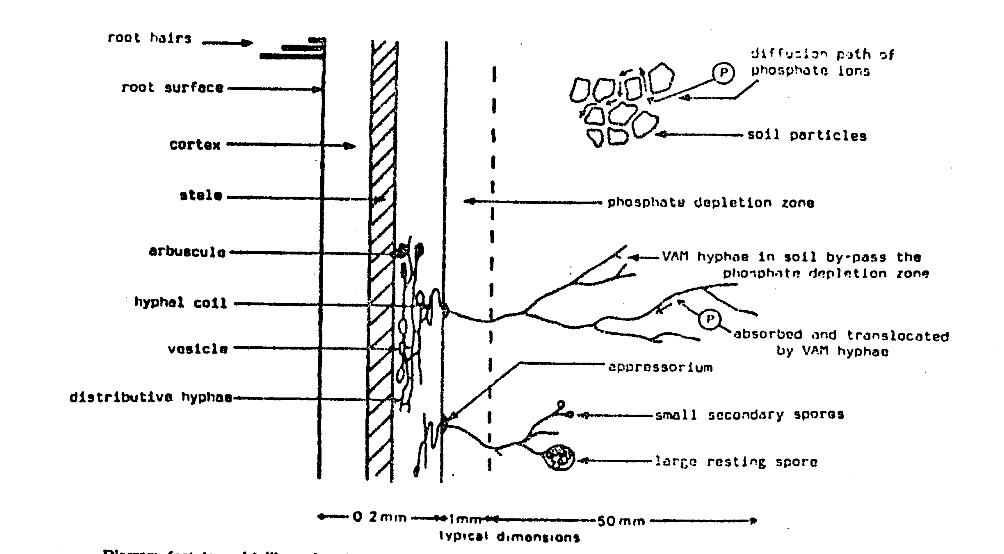
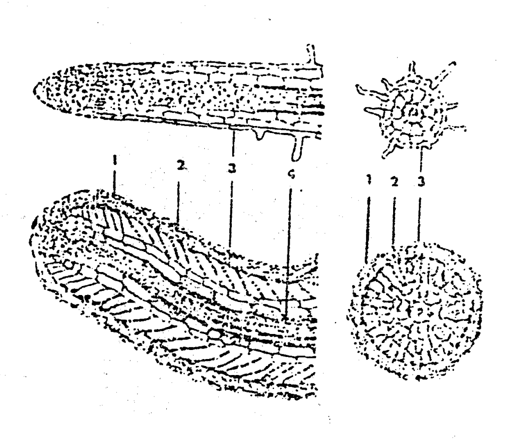


Diagram (not to scale) illustrating the major features of a VA mycorrhiza and the chief mechanism whereby it is believed to enhance the uptake of phosphate from soil. (From Subba Rao, 1982).

شكل رقم (٢-٦) : رسم تخطيطي يوضح الملامح العامة للميكورهيزا وامتصاصها للفوسفات من التربة .

الجراثيم التى يكونها الفطر ذات حجم كبير نسبيا ، فى حجم رأس الدبوس ، يمكن فصلها بسهولة من التربة بغرابيل ذات سعة ثقوب مناسبة ، ويمكن أن تحتفظ بحيويتها لمدة شهر على درجة ٤ - ٥°م ، وتتميز هيفات الفطر بالصبغ بازرق الميثيلين ، اما خلايا الجذر للعائل المصاب فتظهر بلون أصفر مخضر عن خلايا الجذر غير المصاب (كما فى حالة الذرة) ، نتيجة الصبغات التى يفرزها الفطر .

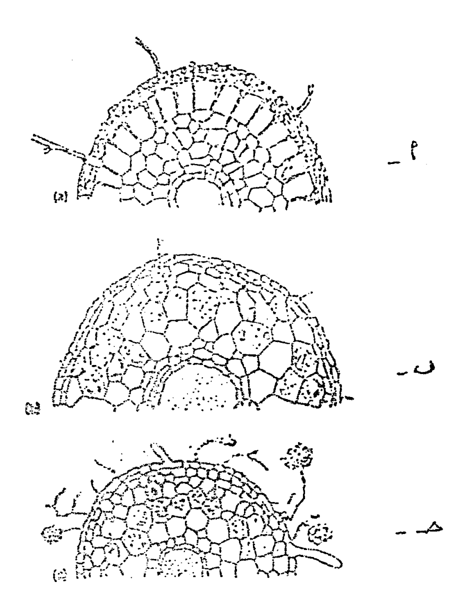


Upper : Non-mycorrhizal root.
Lower : Mycorrhizal root.

1. Fungal mantle.
2. Harting net.
3. Epidermal cell.
4. Vascular tissue.

(From Walker, 1975)

شكل رقم (٢-٧) : جذر مصاب وآخر غير مصاب بالميكورهيزا .



شكل رقم (٢ - ٨) : قطاع عرضى فى نباتات مصابة بالميكورهيزا Intracellular .

أ ـ تشاهد فيها الهيفات تدخل من بين الخلايا

Intracellular

ب ـ تشاهد فيها الهيفات تدخل داخل الخلايا

Vesicular-arbuscular

جـ ـ تشاهد فيها دخول هيفات الميكورهيزا من نوع Endophyte

مع وجود اجسام ثمرية بالميسليوم الخارجى .

(From Walker, 1975).

تقسيم فطريات الميكورهيزا :

أغلب فطريات الميكورهيزا تتبع Basidiomycetes, Acomycetes and (Zygomycetes) Phycomycetes .

وهذه تتكاثر بالجراثيم الجنسية واللاجنسية ، وبعضا منها يتبع الفطريات الناقصة .

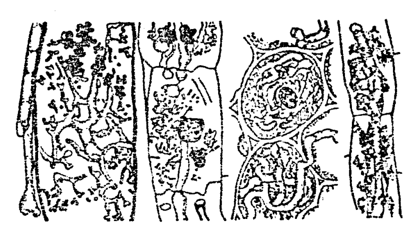
وتقسم فطريات الميكورهيزا الى مجموعتين وذلك من حيث طبيعة المعيشة التعاونية مع العائل وكيفة التغذية والخواص الفسيولوجية وهما :

١ - فطريات تعيش بين الخلايا وتسمى Ectophyte, Ectotrophic mycorrhiza Sheathing mycorrhiza . هذه المجموعة من فطريات الميكورهيزا تكون غلاف Mantle حول جذور العائل بطبقة سمكها ٢٠ - ٤٠ ميكروميتر كما تمتد الهيفات وتنمو خلال المسافات التى بين الخلايا فى منطقة القشرة Intercellular growth ، وتوجد هذه المجموعة من الفطريات فى جذور كثير من الاشجار ومنها انواع اقتصادية كشجر الزان والصنوبر . ومن اجناس الميكورهيزا التى تتبع هذه المجموعة Boletus, Lactarius and Amanita (of Hymenomycetes), Elaphomyces (of Ascomycetes) .

٢ - فطريات تعيش داخل الخلايا وتسمى : Endophyte, Endotrophic, mycorrhiza, Vesicular arbuscular mycorrhiza (VAM) هذه الفطريات تخترق جدر العائل وتدخل الى داخل الخلايا وتتكاثر Intracellular growth مع وجود بعضها خارج الجذر ممتد فى التربة . وهذه المعيشة توجد مع جذور النباتات التابعة لعائلات Orchidaceae, Rosaceae كما توجد فى اشجار الفواكه والموالح وشجر التين وكثير من النجيليات والبقوليات والسرخسيات .

اهم مايميز فطريات VAM. فى جذور العائل ، وجود التفرع الشجرى الشكل Arbascules والاوعية Vesicles ومن هنا جاء الاسم Vesicular Arbascular mycorrhiza .

الاوعية قد تكون بيضاوية الشكل وأحيانا قد تكون مستديرة او ذات فصوص ، توجد بين خلايا القشرة أو بداخلها ، وهى متصلة بهيفات الفطر ، وتعمل الأوعية كأعضاء تخزين ، وفى جذور الخلايا المسنة تتحول الى جراثيم Resting spores تخرج الى التربة عند تحلل الجذور .



Hyphal development in endotrophic mycorrhizae.

(From Alexander, 1971).

شكل (٢ - ٩) : تطور هيفات الميكورهيزا الداخلية .

التفرع الشجيرى يقوم بعملية تبادل المواد الغذائية بين كل من الفطر والعائل (الكربوهيدرات والاحماض الامينية من النبات للفطر ، والفوسفات والعناصر المعدنية من الفطر للنبات) ، وهى توجد بالقشرة وتتكون بعد عدة أيام من غزو الفطر لجدار العائل ، وتتحلل بعد اسبوعين أو ثلاثة ليتكون بدلا منها .

هيفات الفطر المتصلة بجذر النبات العائل والممتدة بالتربة بعيدا عن الجذور ، تعمل كشبكة اضافية من الشعيرات الجذرية ، تنقل العناصر الغذائية من التربة الى التفرعات الشجيرية للفطر داخل قشرة جذر العائل ، ومنها الى اجزاء النبات المختلفة .

والأنواع المتحوشة التى لها القدرة على تكوين VAM تقع تحت عائلة :

Fam. Endogonaceae (Or. Mucorales; Cl. Zygomycetes)

وأهم اجناسها :

Acaulospora, Gigaspora, Glomus and Sclerocystis.

Characteristics of genera in Endogonaceae, Or. Endogonales.

Ref : Hall, I.R. and Fish, B.J. (1979).
A key to the Endogonaceae. Trans. Br. Mycol. Soc., 73 : 261-270.
Trappe, J.M. and Schenck, N.C. (1982).
Methods and Principles of Mycorrhizal Research. APS. Chap. 1, pp. 1-9.

*Endogone	: Zygospores in sporocarps.
Gigaspora	: Azygospores borne singly in the soil.
Acaulospora	: Azygospores borne singly in the soil.
Glomus	: Chlamydospores in sporocarps.
Sclerocystis	: Chlamydospores in sporocarps.

ويميز بين الاجناس بواسطة :

1. Sporocarp : Presence, Form, Dimensions, Colour of surface, Peridium.

2. Spores : Shape, Dimensions, Surface ornamentation, Wall (s), (No., colour, thickness).

3. Sporogenous hypha (e) : Number, form, colour, thickness.

ويوضح الجدول رقم (٢-١) النباتات المتعايشة مع فطريات الميكورهيزا .

النواحي العملية لفطريات VAM :

فطريات VAM واسعة الانتشار اذا ماقورنت بفطريات الاكتومايكوريزا ، فهى توجد فى أراضى تحت ظروف مناخية متعددة من الاستوائية الى المعتدلة الى المناطق القطبية ، وان كانت تتأثر بنوع التربة والنبات القائم والظروف البيئية .

هذه الفطريات تعيش بالاشتراك مع جذر النبات ، ولم يمكن زراعتها فى غياب جذر النبات العائل ، كما لم يمكن حتى الآن عزلها على أطباق الآجار بالطرق الميكروبيولوجية المعتادة .

وهى تلعب دورا هاما فى تيسير الفوسفات للنبات خاصة فى أراضى المناطق الحارة حيث تزداد عملية تثبيت الفوسفات وبتحول الى صورة غير صالحة لامتصاص النبات علاوة على أن درجات الحرارة المرتفعة نسبيا تزيد من نشاط الفطريات بهذه الاراضى عن أراضى المناطق المعتدلة الحرارة أو الباردة .

وعلاوة على أن فطريات VAM تزيد من امتصاص النبات للفوسفات ، فانها تزيد من امتصاصه للزنك كما لوحظ فى نباتات القمح والذرة والبطاطس والخوخ المنزرعة فى أراضى معرة فى عنصر الزنك . كذلك فان فطريات VAM تزيد من امتصاص النبات لبعض العناصر الاخرى مثل البوتاسيوم والنحاس والكبريت وبعض العناصر الثقيلة .

---

* هذا الجنس - الذى تسمى باسمه العائلة - هو الوحيد الذى يكون جراثيم زيجية حقيقية ، ويتبعه الآن الانواع التى لا تكون أو تكون ميكورهيزا خارجية .

Table (2-1): Occurrence of mycorrhiza in the plant kingdom.

Type of Mycorrhiza	Main Plant Groups Affected	Fungi Involved
Ecto-	Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae, etc.	Basidiomycetes (especially Agaricales & Gasteromycetes); a few Ascomycetes; *Endogone* spp (?)
Orchid	Orchidaceae	Basidiomycetes, N.B. *Rhizoctonia* & *Armillaria*.
Ericoid	Ericales	Ascomycetes, N.B. *Pezizella ericae*.
VA (Vesicular-arbuscular)	Bryophytes; Pteridophytes; Gymnosperms (excl. Pinaceae); Angiosperms, NB: Leguminosae, Gramineae, Rosaceae, etc.	Endogonaceae (Zygomycetes/ Phycomycetes); 4 main genera: *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora* & *Sclerocystis*.
Ecto and/or VA	Salicaceae, Myrtaceae, Tiliaceae, etc.	Ecto & VA fungi
(Ect, Endo- & misc.)	Ecto-species; *Arbutus* (Ericales).	Basidiomycetes (?)
Non- or rarely mycorrhizal	Cruciferae, Chenopodiaceae, Cyperaceae, Centrospermae, etc.	(VA fungi)

اضافة الى ماسبق ، فان فطريات VAM تتعايش مع جذور معظم نباتات مغطاة البذور خاصة البقوليات والنجيليات ، كما توجد فى جذور بعض معراة البذور والسرخسيات والحزازيات ، ولاتخلو منها الا جذور بعض نباتات قليلة تتبع عائلات Pinaceae , Fegaceae , Betulaceae التى تتعايش مع فطريات الاكتوميكورهيزا .

تواجد فطريات الميكورهيزا الداخلية فى الأراضى المصرية :

تلعب فطريات الميكورهيزا الداخلية VAM ، التى تعيش داخل خلايا العائل ، دورا هاما فى اراضى حوض البحر الابيض المتوسط وأراضى المناطق تحت القارية . فالظروف البيئية السائدة فى هذه الاراضى من حيث ارتفاع رقم الـ pH ونسبة كربونات الكالسيوم ، والقدرة العالية على تثبيت الفوسفور مع توفر الحرارة والاضاءة تشكل عوامل مشجعة لنمو هذه الفطريات وتعايشها مع النبات العائل ، وبالاضافة الى ذلك فان هذه الفطريات تمثل وسيلة فعالة لتقليل التكاليف المستخدمة فى انتاج اسمدة فوسفاتية ذائبة .

وقد اوضحت الدراسات* التى أجريت خلال السنوات الاخيرة على الاراضى المصرية المنزرعة (وهى ذات pH أعلى من ٧٫٠ وفوسفور كلى حوالى ٥٠٠ وميسر أقل من ٧٠ جزء فى المليون) أن فطريات الميكورهيزا الداخلية توجد فى جميع الاراضى التى درست بكثافة تصل فى المتوسط مابين ٧-١٠ آلاف جرثومة لكل كيلو جرام تربة . وقد تراوحت نسبة الاصابة بهذه الفطريات فى جذور النباتات النامية بين ٢٠-٧٠٪ وذلك حسب نوع النبات والمنطقة المنزرع بها ودرجة خصوبة التربة وظروفها البيئية . وقد انخفضت نسبة الاصابة الى ١٠٪ فى الاراضى الحديثة الاستصلاح المنزرعة لاول مرة وكذلك فى الاراضى الملحية بشمال الدلتا حيث انخفض عدد الجراثيم بالاراضى الملحية الى أقل من ٣ آلاف جرثومة لكل كيلو جرام تربة .

وقد وجد أن الجراثيم المعزولة من الاراضى المصرية تنتمى الى ٣ أجناس من فطريات الميكورهيزا الداخلية هى Glomus , Gigaspora , Sclerocystis . جراثيم جنس Glomus هى الاكثر شيوعا بالمقارنة مع الاجناس الاخرى ، وأظهرت نتائج تعريف هذه الجراثيم أنها تمثل ثلاثة أنواع تابعة لهذا الجنس هى :

G. clarum , *G. fasciculatum* , *G. mosseae*.

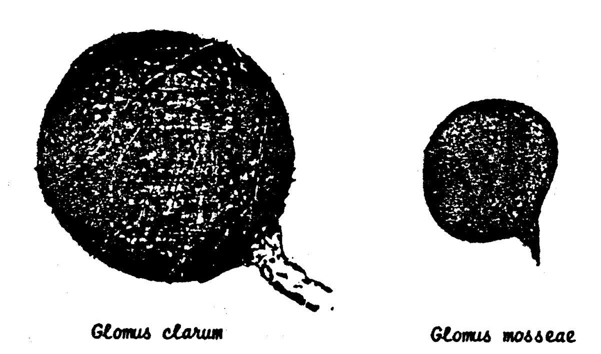
أما من حيث تأثير التلقيح بالميكورهيزا على نمو النبات العائل واعداد جراثيم الميكورهيزا بالتربة والنسبة المئوية للاصابة بها فى جذور العائل ، فقد وجد الآتى :

١ - تلقيح التربة بقطع الجذور المصابة بالفطر اعطى نسبة أعلى من الاصابة بجذور النبات العائل عن التلقيح بالجراثيم ، وقد وجد أن التلقيح الخلطى بخليط من فطريات أجناس الميكورهيزا كان أفضل من التلقيح الفردى بأى منها سواء بالنسبة لنمو النبات العائل أو بالنسبة لمدى اصابة جذوره أو لاعداد جراثيم الميكورهيزا بالتربة .

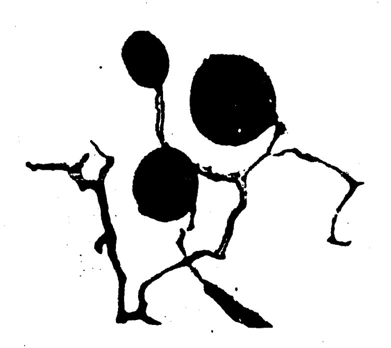
---

* c.a. Fares, 1986.

لوحة رقم (٢ - ١) : اشكال جراثيم الميكورهيزا VAM المعزولة من الاراضى المصرية .



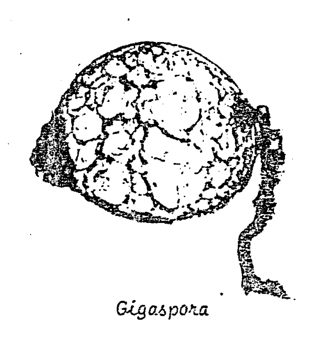
Glomus clarum *Glomus mosseae*



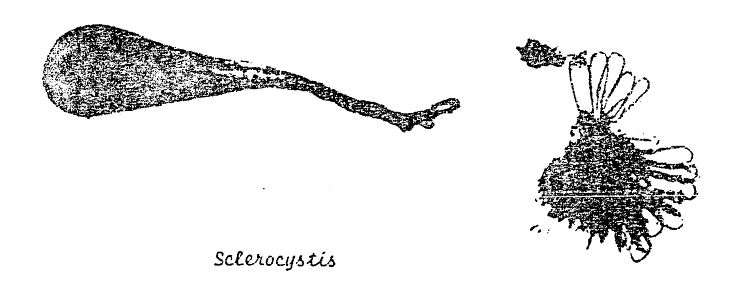
Glomus fasciculatum

*(From Fares Clair N., Studies on VAM in Egypt, M. Sc. Thesis, Fac. Agric., Ain Shams Univ., Cairo, 1986).

لوحة رقم (٢-٢) : اشكال جراثيم الميكورهيزا VAM المعزولة من الاراضى المصرية .



Gigaspora



Sclerocystis

(From Fares Clair N., Studies on VAM in Egypt, M. Sc. Thesis, Fac. Agric., Ain Shams Univ., Cairo, 1986).

٢ - كانت العوائل البقولية أكثر استجابة في نموها على الميكورهيزا بالمقارنة بالنجيليات . وقد ازدادت استجابة البقوليات للميكورهيزا بالتلقيح بالرايزوبيا المتخصصة .

٣ - باستخدام المعدل الحقلي المعتاد للنبات (على اساس P) من كل الفوسفات الصخرى أو السوبر فوسفات مع التلقيح بالميكوريزا فقد تساوى تأثير التسميد بالفوسفات الصخرى مع تأثير التسميد بالسوبر فوسفات على نمو ومحصول النبات المنزرع . وهذا يشجع على استعمال الفوسفات الصخرى الرخيص الثمن المتوفر طبيعيا كبديل للسوبر فوسفات الاغلى ثمنا ، وذلك كمصدر للفوسفور للنبات .

٤ - امتد التأثير المتبقى للتلقيح بالميكورهيزا مع الفوسفات الصخرى ليشجع نمو ومحصول النباتات التالية في الدورة الزراعية .

من المهم حاليا التوسع في دراسة فطريات الميكورهيزا تحت ظروفنا المحلية خاصة ما يتعلق بالانواع التي تعيش داخل الخلايا Endophyte وهي الانواع التي تصيب غالبا المحاصيل البستانية والحقلية كما ذكر سابقا . وهي تكون جراثيم كلاميدية كبيرة مميزة توجد داخل الانسجة ، ويمكن صبغ تلك الجراثيم بصبغة أزرق الميثلين . ولو امكن تنمية تلك الانواع من الفطريات في جذور النباتات البقولية المثبتة للازوت ، فأن الفائدة الناتجة ستكون مزدوجة من حيث تثبيت الازوت وامداد النبات بما يلزمه من الفوسفور وذلك بواسطة الميكروبات.

٤) الخمائر Yeasts :

كلمة خميرة ليس لها دلالة محددة من حيث علم التقسيم ولكنها تشير الى مجموعة من الفطريات وحيدة الخلية تتكاثر بالتبرعم أو الانقسام الثنائي .

ويتبعها مجموعتين احداهما متجرثمة Sporogenous تكون جراثيم اسكية واخرى غير متجرثمة لاتكون جراثيم Asporogenous ، ورغم أنه لم يوجه اهتمام كبير الى الخمائر الموجودة بالتربة لان دورها في تحولات العناصر بالتربة غير محدد تماما ، الا أنه يمكن ملاحظة وجودها في معظم الاراضي ، فهي متواجدة في اراضي المراعي والغابات والحقول المنزرعة وحول جذور بعض النباتات ، غير أن درجة انتشارها ليس بالدرجة التي توجد عليها البكتريا ، وهي توجد باعداد تتراوح مابين ٢٠٠ الى ١٠٠,٠٠٠ حسب الظروف البيئية المحيطة بها .

ومن أكثر اجناس الخمائر التي عزلت من الاراضي انواع غير متجرثمة مثل :
Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Torula, Torulopsis.

ومن الانواع المكونة لجراثيم اسكيه وعزلت من التربة :

Saccharomyces, Debaromyces, Hansenula, Lipomyces, Pichia.

ومما يذكر ان خميرة *Lipomyces starkeyi* تتحمل الحموضة ويكثر وجودها في الاراضي الاستوائية ، وهي نفس الظروف التي تتواجد تحتها البكتريا المثبتة لازوت الهواء الجوي المساة بايرنكيا . والخميرة تعيش مع هذه البكتريا معيشة تعاونية ، حيث تفرز الخميرة موادا مشجعة لنمو البكتريا مما يزيد من كفاءتها في تثبيت الازوت .

من البحوث التي أجريت على الاراضي المصرية ، فقد وجد أن اعداد الخميرة بالتربة يتراوح مابين عدة عشرات الى عدة آلاف وذلك حسب ظروف التربة ونوع الزراعة ، كما وجد أنها توجد باعداد أكبر في منطقة الريزوسفير ، كما تقل أعدادها في الاراضي الرملية والملحية والقلوية .

ويسود في الاراضي المصرية الانواع غير المتجرثمة حيث تمثل من ٧٠ - ٨٠ ٪ من انواع الخمائر المعزولة ، ومن أكثر الانواع غير المتجرثمة السائدة في التربة المصرية :

Cryptococcus albicans, Rhodotorala glutinis

ومن المعروف أن خمائر الرود وتورولا ملونة .

وقد وجد أن الخمائر المعزولة لها القدرة على تحليل الكازين وانتاج الامونيا (أي القيام بعملية النشادرة) وتحليل النشا وانتاج احماض عضوية ، ولكن ليس لها القدرة على تحليل السليلوز أو البكتين أو تثبيت الازوت .

بيئات العزل :

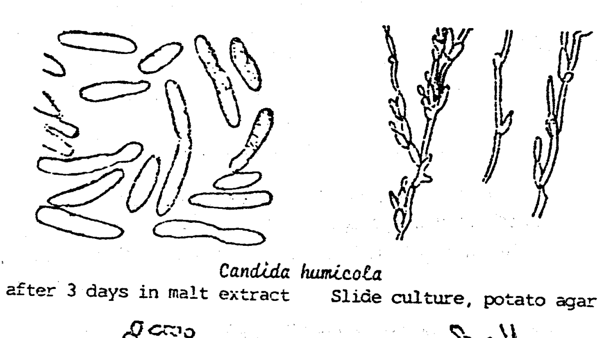
وجد أن أنسب البيئات لعزل الخمائر من الاراضي المصرية ، البيئات التالية :

1) Hertz and Levine's medium.

2) Modified Warcurp's medium.

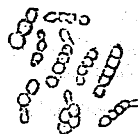
3) Czabec-Dox medium.

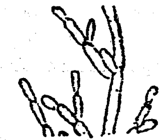
حيث وجد أن هذه البيئات سهلت عزل الانواع المختلفة من الخمائر ، وذلك لزيادة أعداد مجاميع الخميرة النامية على الاطباق وكبر حجم مستعمراتها وأيضا للحد من ظهور الميكروبات الاخرى غير المرغوب فيها من البكتريا والفطر ، وعلى سبيل المثال فان البيئة رقم (١) تحتوي على جميع المكونات الكافية لنمو الخميرة والعوامل المساعد للنمو (في مستخلص المولت) مع وجود مادة Diphenyl كمثبط للفطر ، pH ٤ر٥ غير الملائم لنمو البكتريا .



Candida humicola

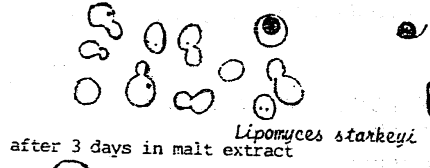
after 3 days in malt extract — Slide culture, potato agar





Pichia

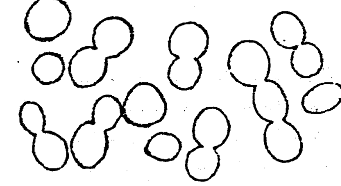
Asci & Ascispores — Budding cells (x 1000)

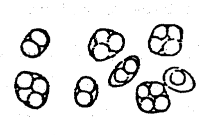




Lipomyces starkeyi

after 3 days in malt extract — Spores on ethanol medium after 17 days





Spores after 1 week

after 3 days

Saccha. cerevicieae

شكل رقم (٢ - ١٠) : انواع مختلفة من الخمائر معزولة من التربة الزراعية .

٥) الطحالب Algae :

توجد الطحالب فى كل انواع الاراضى وأن كانت اعدادها أقل من البكتريا والفطريات والاكتينوماسيتات ، وتتميز الطحالب باحتوائها على الكلوروفيل وعلى ذلك فهى كائنات اوتوتروفية تقوم بعملية التمثيل الضوئى ومنها تحصل على الطاقة اللازمة لها ، واذا نمت الطحالب فى أعماق التربة بعيدا عن الضوء فانها تبقى ساكنة لفترة محددة وان كان هناك أنواع من الطحالب اختيارية فى تغذيتها أى أنها فى غياب الضوء تتغذى على مصادر كربون عضوية .

وعموما فأن انتشار الطحالب محدود فى الطبقة السطحية من التربة فى وجود رطوبة عالية وتكثر على سطح الاراضى الغدقة ويمكن تقدير اعداد الطحالب فى التربة باستخدام طريقة العدد التقريبى (MPN) Most probable number وذلك باستخدام بيئة خالية من مصدر الكربون وتحتوى على العناصر المعدنية اللازمة لنمو الطحالب فى الضوء لمدة ٤ - ٦ أسابيع . ولقد اظهرت الدراسات ان اعداد الطحالب فى الطبقة السطحية من التربة تتراوح بين ١٠٠ - ٥٠٠٠٠٠ / جم ولكن طرق تقدير الطحالب فى التربة لها قيمة محدودة وذلك لان الانواع الخيطية تعطى اعدادا قليلة عند العد بينما الانواع وحيدة الخلية تعطى اعدادا كبيرة .

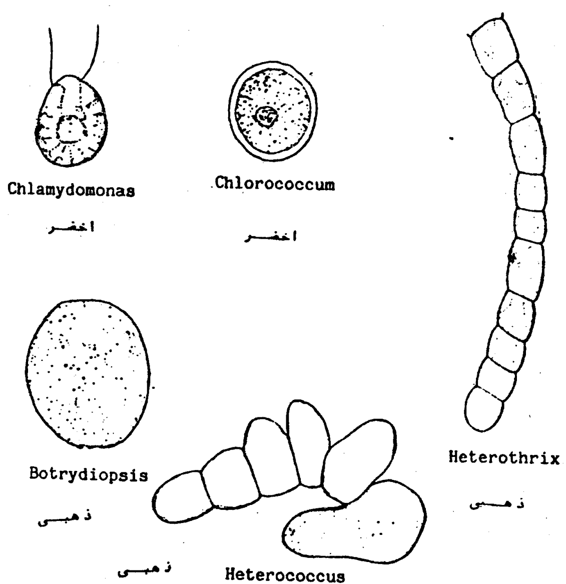
ومن الناحية المورفولوجية ، فأن الطحالب التى توجد بالاراضى اما وحيدة الخلية او تكون سلاسل قصيرة وهى عموما اصغر وابسط تركيبا من الانواع المائية وقد وجد ان الاراضى الزراعية تحتوى على مجموعات الطحالب الرئيسية الاتية :

١ - الطحالب الخضراء Chlorophyceae
٢ - الطحالب (البكتريا) الخضراء المزرقة Cyanophyceae , Myxophyceae
٣ - الدياتومات Bacillariophyceae
٤ - الطحالب الخضراء المصفرة (الذهبية) Xanthophyceae

تسود الطحالب الخضراء والدياتومات على باقى انواع الطحالب الاخرى باراضى المناطق المعتدلة ، بينما تسود الطحالب الخضراء المزرقة فى اراضى المناطق الحارة .

الطحالب الخضراء :

تمتاز باحتوائها على حوامل الصبغات Chromatophores التى تحمل اللون الاخضر المميز للطحالب ، وبالاضافة الى صبغة الكلوروفيل فانه يوجد ايضا الزانثوفيل والكاروتين وهذه الطحالب توجد فى الاراضى غالبا فى صورة كائنات وحيدة الخلية او خيطية بسيطة التركيب ، وبوجه عام ، فان الانواع المنتشرة بالاراضى ابسط تركيبا من تلك الانواع



Several widespread algal genera

شكل رقم (٢-١١) : بعض أجناس الطحالب الشائعة الانتشار .

(From Alexander, 1977)

المنتشرة فى الاوساط المائية ، وعموما فان الطحالب الخضراء تسود الانواع الاخرى من الطحالب فى اراضى المناطق المعتدلة وفى الاراضى الحامضية ومن اهم اجناسها الموجودة بالاراضى Chlamydomonas, Chlorella, Chlorococcum, Scenedesmus, Ulothrix

الدياتومات : Diatoms

توجد بالاراضى ككائنات وحيدة الخلية أو فى مستعمرات ، وهى محاطة بطبقة خارجية من السليكا ، وتتواجد بأراضى المناطق المعتدلة التأثير أو القلوية ، ومن أكثر

أجناسها تواجدا بالاراضى Cymbella, Navicula, Surirella .

الطحالب الخضراء الصفرة :

تعتبر نسبيا أقل أنواع الطحالب تواجدا بالاراضى ومن أهم أجناسها التى وجدت بالتربة Botrydiopsis, Heterococcus, Heterothrix .

الطحالب الخضراء المزرقة :

Blue green algae (Blue green bacteria, Blue greens)

تمثل الطحالب الخضراء المزرقة أكبر وأكثر المجموعات انتشارا للبروكاريوتا الممثلة للضوء ، وهى تعتبر حلقة اتصال بين البكتريا والنباتات الخضراء وتصنف ضمن البكتريا نظرا لتركيبها الخلوى البروكاريوتى .

ويوجد من هذه المجموعة اكثر من ٢٠٠٠ نوع ومنها وحيد الخلية المجهرى أو مايوجد فى خيوط ، وهى تتواجد فى مناطق متباينة تمتد من القطب الى القطب كما فى حالة البكتريا - وأغلبها غير ضار ، وعند ما تنمو فى تجمعات كبيرة Mass growth فانها تعطى الوسط المائى النامية به مثل البحيرات لونا مميزا لا معا، وكثير منها يعتبر غذاء للبلانكتون أو تستعمل كسماد ومنها مايثبت أزوت الهواء الجوى بالتربة ، وتتراوح نسبة ك/ن بها من ٥ الى ١٥ .

والطحالب الخضراء المزرقة أكبر حجما من البكتريا ، وهى هوائية وان كانت تستطيع ان تحيا تحت ظروف لا هوائية ، ولونها المميز يعود الى وجود صبغة زرقاء تسمى Phyco-cyanin وعموما فهى تمتاز بالآتى :

١ - التركيب الخلوى البروكاريوتى أى المشابه للبكتريا .
٢ - غياب الفلاجلا فالحركة فيها انزلاقية .
٣ - احتوائها على ثلاثة أنواع من الصبغات :
أ - الصبغة الخضراء الممثلة للضوء من نوع كلوروفيل أ .
ب - صبغات من نوع Phycobiliproteins التى من أهم انواعها :
(١) الصبغة الزرقاء Phycocyanin المميزة للطحالب الخضراء المزرقة (وتمثل حوالى ٧٠ ٪ من Phycobiliproteins) .
(٢) صبغة Phycoerythrin وتمثل حوالى ١٧ ٪ .
(٣) صبغة Allophycocyanin وتمثل حوالى ١٣ ٪ .

وصبغات Phycobiliproteins تعمل مع النظام الضوئى رقم ٢ الخاص بتحليل الماء وانطلاق الاكسجين أى لا علاقة لها بتثبيت ك أ٢ .

جـ - صبغات أخرى من نوع Carotenoid التي تشمل نوعين اساسين همـــا Carotene , Xanthophyll.

٤ - وجود مواد غذائية مخزنة بروتينية من نوع Cyanophycin .

٥ - بعض الأنواع تحتوى على خلايا خاصة تسمى Heterocyst .

التركيب :

خارج الجدار الخلوى يوجد غلاف من مواد لزجة Mucilagenous sheath يختلف في السمك حسب الظروف المحيطة ، يدخل في تركيبه السليلوز والبكتين أما باقـى تركيب الخلية من حيث الجدار الخلوى ، الغشاء السيتوبلازمى ، الريبوسومات ، النـواة ، الفجوات ... الخ ، فانه يشبه البكتريا .

من حيث الصبغات الضوئية فانها توجد في نظام طبقى Lamellar System (Thylakoid) عبارة عن ثنايات في الغشاء السيتوبلازمى ، عددها ونظام ترتيبهـا يختلف باختلاف النوع والعمر وهى تقـوم بعمل البلاستيدات الخضراء Chloroplast فى الطحالب الراقية ولكن الاخيرة محاطة بغشاء يفصلها عن السيتوبلازم .

النمو الخضرى :

أغلب أنواع الطحالب الخضراء المزرقة خيطية Filamentous منها المتفـرع branched مثل Tolypothrix , Calothrix ومنهـا غير المتفـرع Unbranched مثل Nostoc, Oscillatoria وبعضها يوجد كخلايا وحيدة أو فـى مستعمرات ومن الانواع وحيدة الخلية الاجناس Chroococcus , Anacystis , Gloeocapsa .

التكاثـر :

تتكاثر الطحالب الخضراء المزرقة بعدة طرق منها :-

١ - التجزئة Fragmentation .

٢ - الانقسام الثنائى مثل البكتريا .

٣ - تكوين جراثيم لا جنسية ومن أنواعها :

أ - Hormogonia وهى أجزاء صغيرة من الخيط ذات نهايات مستديرة ، متحركة ، وهى توجد فى الاجناس التابعة لرتبة Nostocales .

ب - Akinetes وهى خلايا كبيرة ذات جدر سميكة بها حبيبـات Cyanophycin وهى تمثل طور السكون فى الطحالب ، غير متحركـة ،

تقاوم الظروف السيئة التى عند تحسنها تنبت وتعيد دورة الحياة ، وهى توجد فى الاجناس التابعة لعائل Nostocaceae .

جـ - جراثيم داخلية Endospores وهى توجد فى انواع كثيرة ، حيث يتكون عدد من الجراثيم الداخلية داخل الخلية ثم تنطلق منها وتنبت .

٤ - تكاثر جنسى :

كما فى حالة البكتيريا التى تتكاثر بالتزاوج.

الوضع التقسيمى :

فى تقسيم الطحالب فان الطحالب الخضراء المزرقة تتبع :

Phylum : Cyanophyta, Class : Cyanophyceae (Myxophyceae).

وفى تقسيم (Bergey, 1957) فانها كانت تتبع :

Phylum : Protophyta, Class : Schizophyceae.

أما فى تقسيم (Bergey, 1974) فانها تتبع :

Kingdom : Procaryota.

Division : Photobacteria.

Class : Cyanobacteria (Blue-green photobacteria).

أما فى التقسيم الحديث (Bergey, 1984) فقد وضعت فى المجلد الثالث الذى يضم البكتيريا ذات الصفات غير العادية Bacteria with unusual properties حيث وضعت فى قسم (Section) البكتيريا الممثلة للضوء المنتجة للاكسوجين Oxygenic phototrophic bacteria .

والاقسام الرئيسية للبكتيريا الخضراء المزرقة تظهر فى الجدول رقم (٢-٢) .

انتشارها :

تسود انواع الطحالب الخضراء المزرقة على باقى أنواع الطحالب فى اراضى المناطق الحارة ، وهى تفضل الاراضى المتعادلة وتقل فى الاراضى الحامضية لدرجة انها تختفى من الاراضى ذات الحموضة الاقل من pH 5 .

وأهم الانواع الموجودة بأراضى المناطق الحارة ذات الـ pH المختلفة موضحة بالجدول رقم (٢-٣) .

جدول رقم (٢-٢) : الاقسام الرئيسية للبكتيريا الخضراء المزرقة .

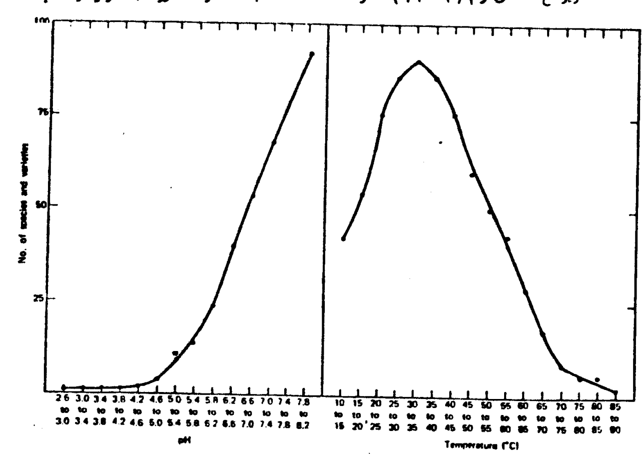
Table (2-2): The main groups of Cyanobacteria.

Section	Basic morphology	Reproduction	Plane of division	Representative genera
I	Unicellular or colonial	Binary fission	Single	*Gloeobacter*, *Gloeothece*. *Synechococcus*
			Two or more	*Chroococcus*, *Gloeocapsa*, *Synechocystis*, *Microcystis*, *Merismopedia*.
		Budding		*Chamaesiphon*
II	Unicellular, colonial or Filamentous	Multiple fission		*Dermocarpa*, *Dermocarpella*, *Chroococcidiopsis*, *Xenococcus*, *Myxosarcina*, *Pleurocapsa*.
III	Filamentous non-heterocystous	Trichome fragmentation, hormogonia	Single	*Oscillatoria*, *Microcoleus*, *Spirulina*, *Pseudoanabaena*, *Plectonema*, *Lyngbya*, *Phormidium*
IV	Filamentous heterocystous	Trichome fragmentation hormogonia, akinetes	Single	*Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Nostoc*, *Nodularia*, *Anabaenopsis*, *Cylindrospermum*, *Calothrix*, *Dichothrix*, *Gloeotrichia*, *Rivularia*, *Scytonema*, *Tolypothrix*.
V	Branched filamentous heterocystous	Trichome fragmentation, hormogonia, akinetes	Two or more	*Mastigocoleus*, *Nostochopsis*, *Mastigocladus*, *Westiella*, *Fischerella*, *Hapalosiphon*, *Stigonema*, *Chlorogloeopsis*.

جدول رقم (٢-٣) : اهم انواع الطحالب الخضراء المزرقة بأراضى المناطق الحارة .
(مأخوذ من الكسندر ١٩٨٢)

الجنس	عدد انواع الطحالب الخضراء المزرقة		
	ارض ذات pH 8.5	ارض ذات pH 8.7	ارض ذات pH 9.1
Anabaena	٢	٢	٥
Lyngbya	١٠	٤	٩
Nostoc	٦	١	١
Oscillatoria	٦	١	١٢
Phormidium	١٣	٦	٦
Plectonema	٢	صفر	١

ويوضح الشكل رقم (٢ -١٢) تأثر اعداد الطحالب الخضراء المزرقة بالحرارة والpH .



Distribution of blue-green algae as related to environmental reaction and temperature.

شكل رقم (٢-١٢) : تأثير حرارة وحموضة الوسط على اعداد الطحالب الخضراء المزرقة .

(From Alexander, 1971)

أما من ناحية دور الطحالب فى التربة فيجب أن نلاحظ أن الطحالب كثيرا ماينظر اليها على انها ليست لها دور هام فى كثير من التغيرات الحيوية المرتبطة بخصوبة الاراضى ، وان أهم مايميز الطحالب هو انها تقوم بعملية التمثيل الضوئى ، وعلى ذلك فهى قادرة على تكوين مواد عضوية فى الارض من مواد معدنية بسيطة وثانى اكسيد الكربون ، والزيادة فى محتوى الارض من المواد العضوية نتيجة لنمو الطحالب لا توجد لها تقديرات دقيقة . تلعب الطحالب دورا فى تعرية الصخور Weathering فالطحالب تنمو على سطوح الصخور لتكون طبقة سميكة وهذه الطبقة بعد ذلك تعتبر مصدرا عضويا تتكون عليه مستعمرات البكتريا والفطريات ونمو هذه الكائنات المختلفة وتكوينها لحامض الكربونيك والاحماض العضوية ونواتج تحليل المواد العضوية تعتبر عوامل بيولوجية ذات أثر فعال فى عملية التعرية ، وفى بعض الاحوال قد يكون نمو الطحالب على سطح التربة سببا فى تقليل معدل الانجراف Erosion ، وان نمو الطحالب فى الاراضى الرطبة مثل اراضى الارز وعملية التمثيل الضوئى يعطى كميات من الاكسوجين اللازم لتنفس الجذور . ولكن فى بعض الاحوال قد يكون النمو الزائد لهذه الطحالب فى اراضى الارز ضارا بالنباتات مما يلزم مقاومتها بالمواد الكيماوية .

وقد اتجه الاهتمام فى السنين الاخيرة الى الطحالب الخضراء المزرقة لان كثيرا منها قادر على تثبيت النيتروجين الجوى مما يزيد من محتوى التربة من هذا العنصر . والبعض يفسر النمو الجيد لنباتات الارز فى بعض اراضى الشرق الاقصى التى لاتسمد باسمدة نيتروجينية اساسا الى نمو هذه الطحالب . والطحالب الخضراء المزرقة تثبت النيتروجين فى اجسامها عند نموها وبعد موتها يتحلل ويتمعدن مابها من نيتروجين بواسطة ميكروبات اخرى فيزيد المحتوى النيتروجينى للاراضى ويستفيد منه النبات النامى . ولقد اجريت دراسات كثيرة على تلقيح الحقول المزروعة بالارز بسلالات من الطحالب الخضراء المزرقة ذات كفاءة عالية فى تثبيت النيتروجين الجوى ونتائج هذه التجارب مشجعة ، حيث زاد المحصول بما يزيد من ٣٠٪ ، ومن اهم اجناس الطحالب الخضراء المزرقة المثبتة للنيتروجين الجوى أجناس : Nostoc, Anabaena, Calothrix, Tolypothrix, etc.

واللوحات من (٢-٣) الى (٢-٧) توضح اشكال بعض الطحالب الخضراء المزرقة .

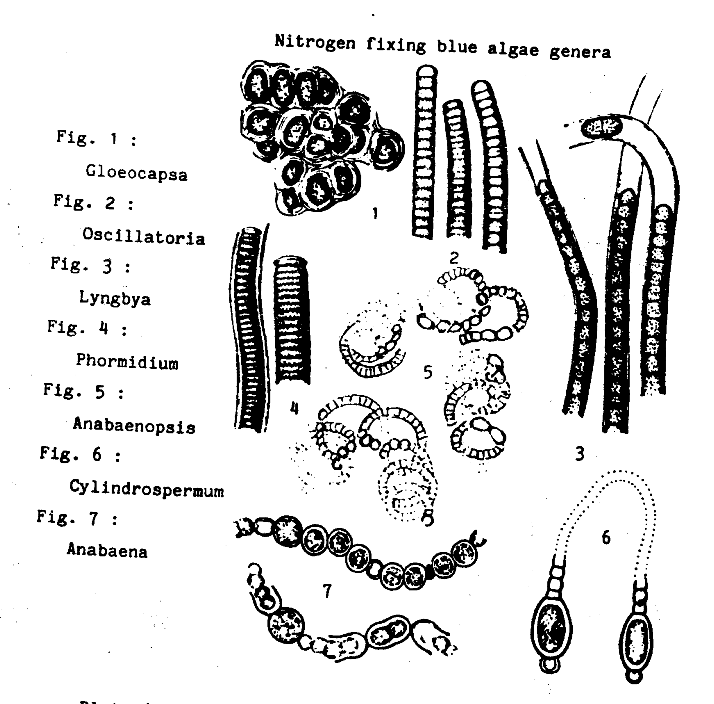


Plate (2-3): Different types of blue-green algae.
(From FAO Soils Bull. No. 46, 1981).

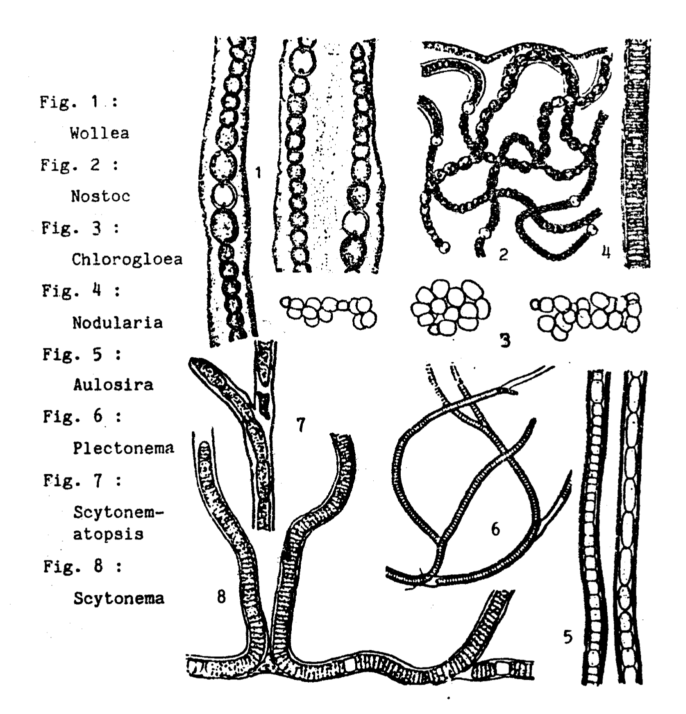


Plate (2-4): Different types of blue-green algae.
(From FAO Soils Bull. No. 46, 1981).

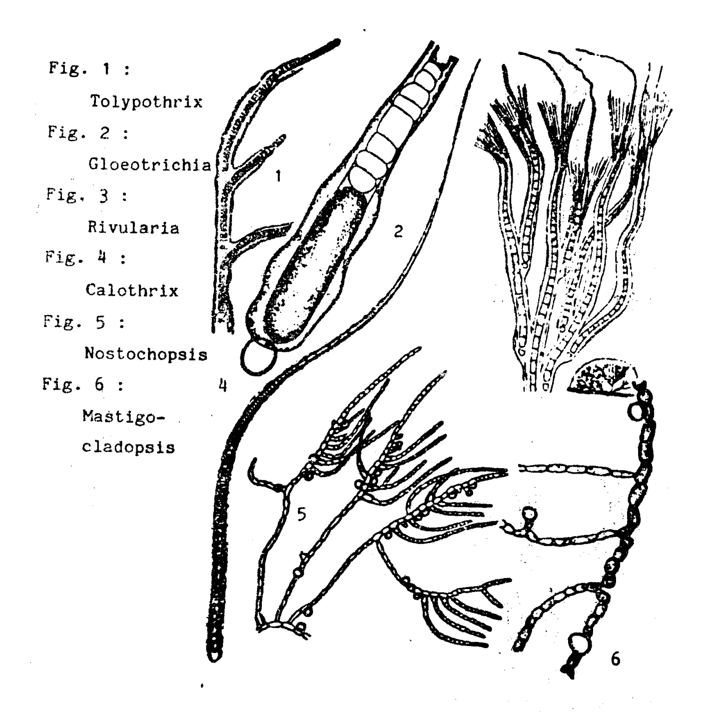


Plate (2-5): Different types of blue-green algae.
(From FAO Soils Bull. No. 46, 1981).

Fig. 1 :
Stigonema
Fig. 2 :
Mastigo-
cladus
Fig. 3 :
Hapalo-
siphon
Fig. 4 :
Fische-
rella

Plate (2-6): Different types of blue-green algae.
(From FAO Soils Bull. No. 46, 1981).

Fig. 1 :
Westiellia
Fig. 2 :
Westiellopsis

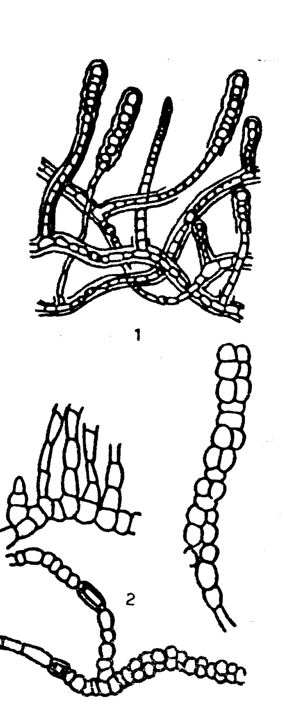


Plate (2-7): Different types of blue-green algae.
(From FAO Soils Bull. No. 46, 1981).

٦) البروتـــوزوا Protozoa :

البروتوزوا احياء دقيقة حيوانية وحيدة الخلية تختلف انواعها كثيرا فى الحجم من بضعة ميكرومترات الى سنتيمتر أو أكثر ومن بين الاقسام الاربعة المعروفة للبروتوزوا فان انواعا تابعــة لثلاثة منها فقط هى التى تعيش فى التربة وهـى :

١) Mastigophora أو Flagellates .
وهى الانواع المتحركة بواسـطة الفلاجلات أو الاسـواط .

٢) Sarcodina أو Rhizopods , Amoeba .
وهى الانواع المتحركة بالاقدام الكاذبـة .

٣) Ciliata أو Ciliates .
وهى المتحركة بالاهـداب .

وعموما فان النوع الثالث Ciliata يوجد بقلة فى التربة أما نوع Sporozoa الجرثومية غير المتحركة فانها لاتعيش فى التربـة .

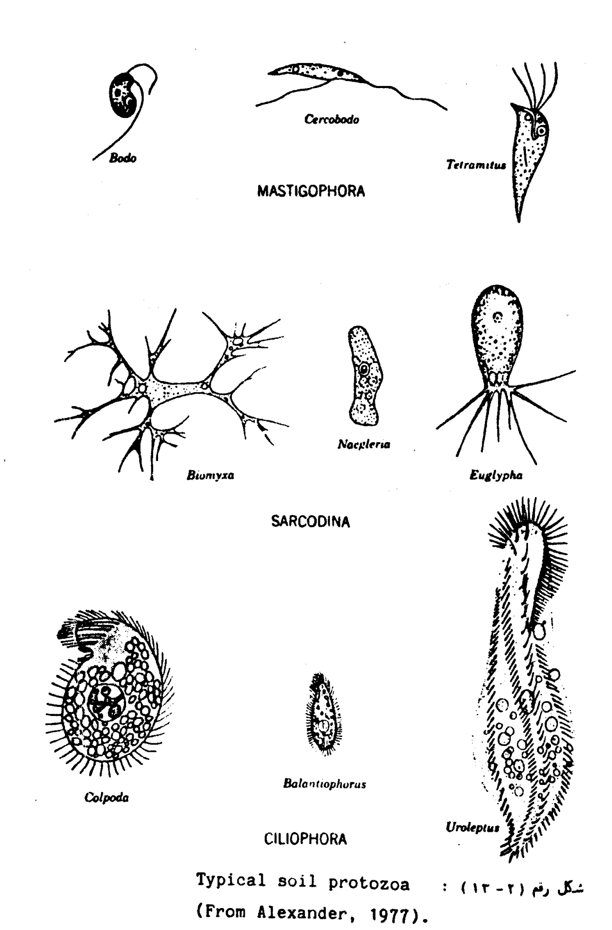
وتمر دورة الحياة فى اغلب أنواع البروتوزوا بطور نشط Trophosite يحدث فيه التغذية والانـقسام وبطور سـكون غير نشـط اكثر مقاومة للظروف السيئة التى توجد بالتربة عن الطور النشط .

وتقدر اعداد البروتوزوا الموجودة بالاراضى بطريقة التخفيف ، ويميز بين الانـــــواع النشطة والانواع الساكنة بمعاملة التربة بحامض ايدروكلوريك ٢ ٪ لمدة ليلة ، وبذا نتخلص من الطور النشط للخلايا .

والانقسام الغالب فى البروتوزوا هو انقسام لاجنسى أى بطريقة الانقسام الثنائى بينما توجد بعض الانواع التى تتكاثر جنسيا .

ويكثر وجود البروتوزوا فى الاراضى فى الربيع والصيف وتوجد فى الطبقة العليا مــــن التربة وتقل اعدادها مع العمق . وتتوقف اعدادها على ظروف التربة خاصة محتواها مــــن المادة العضوية والرطوبة والتهوية ، وعموما فان اعدادها بالتربة يتراوح مابين ١٠ - ٣٠٠ ألف / جم تربـة .

والبروتوزوا فى تغذيتها اما مترمة تعيش على المواد العضوية الميتة Saprozoic أو تلتهم الميكروبات الاخرى الاصغر حجما Holozoic واكثر الكائنات التى تتغــــذى عليها هى البكتريا . ولقد لوحظ انه عند تلقيح البكتريا والبروتوزوا فى تربة معقمة فــــأن اعداد البكتريا تزداد خلال الاسبوع الاول ويكون نمو البروتوزوا قليلا ثم بعد ذلك تـــزداد



شكل رقم (٢-١٢) : Typical soil protozoa (From Alexander, 1977).

اعدادها بسرعة ويتبع ذلك نقص شديد فى اعداد البكتريا . وبعض أنواع البروتوزوا يلزمها اعداد كبيرة جدا من البكتريا لتنمو وتكمل دورة حياتها ولقد قدر أن الخلية الواحدة من بعض أنواع الـ Sarcodina تحتاج الى ٤٠٠٠٠ خلية بكتيرية لتتمكن من الانقسام . وهذه النتائج تؤكد أن البروتوزوا يمكن أن تؤثر على أعداد البكتريا فى التربة ، وهناك آراء تبين أن زيادة اعداد البروتوزوا فى التربة تؤثر على خصوبتها عن طريق تأثيرها على اعداد البكتريا الهامة لخصوبة التربة،ولكن هذه الآراء ينقصها الدلائل الاكيدة حيث ان عملية التوازن الميكروبى فى التربة تتحكم فى اعداد الانواع المختلفة من الكائنات لصالح خصوبة التربة ومن بينها البروتوزوا .

ويجب أن نلاحظ أن أنواع البكتريا المختلفة تختلف من حيث مناسبتها كغذاء للبروتوزوا فبعضها تلتهمه بشراهة وبعضها بدرجة أقل وبعضها غير ملائم لها . وعند تناقص اعداد البكتريا الصالحة كغذاء للبروتوزوا فانها تدخل فى مرحلة تحوصل حيث تبقى ساكنة حتى تتحسن الظروف .

رغم وجود البروتوزوا بالاراضى ، فأن الدور الذى تلعبه بها غير محدد تماما ، غير أنه من الواضح انها تلعب دورا فى حفظ التوازن الميكروبى بالتربة بسبب تغذيتها على البكتريا والخمائر وبسبب تغذية بعض أنواع من الفطريات عليها .

كما يعتقد أن البروتوزوا تلعب دورا فى تحولات بعض العناصر الغذائية الموجودة بالتربة مثل تحلل المواد العضوية المحتوية على الفوسفات .

هذا بالاضافة الى أن الانواع الممرضة منها التى قد تتواجد بالتربة تسبب امراض للانسان (كالدوسنتاريا) وللحيوان وديدان الارض ويرقات بعض الحشرات والحيوانات اللافقارية الاخرى .

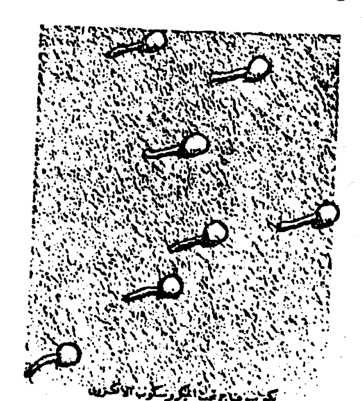
وبالاضافة الى البروتوزوا فانه يوجد بالتربة حيوانات ارقى Macrofauna تختلف احجامها من ميكروسكوبية مثل النيماتودا الى دودة الارض ويرقات الحشرات والنمل وعديدات الارجل والعناكب والقراد وجميعها يناسبها الوسط الهوائى والرطوبة المعتدلة والدفء .

وتلعب ديدان الارض دورا مهما فى خصوبة التربة حيث تقلب الارض وتخلطها بالمواد العضوية وغير العضوية .

٧) الفيروسات Viruses :

الفيروسات كما هو معروف جسيمات حية متناهية فى الصغر لاترى بالميكروسكوب الضوئى العادى ويمكن مشاهدتها باستخدام الميكروسكوب الالكترونى . وتتميز الفيروسات بانها لاتنمو مترممة على المواد العضوية الميتة ولا على البيئات الغذائية الاعتيادية ولكنها متطفلة اجباريا لاتنمو الا على نسيج حى أو داخل العائل القابل للاصابة بها وهى متخصصة فى العائل التى تصيبه ويمكن تقسيمها بالنسبة للعائل الذى تصيبه الى الاقسام الرئيسية الآتية :

١) Zoophaginae الفيروسات الممرضة للحيوانات .
٢) Phytophaginae الفيروسات الممرضة للنباتات .
٣) Bacteriophage وهى الممرضة للبكتريا والاكتينوميسيتات ، وفى الحالة الاخيرة تسمى Actinophage .



بكتريوفاج تحت الميكروسكوب الالكترونى

Bacteriophage particles viewed under the electron microscope.
(From Alexander, 1977).

شكل رقم (٢-١٤) : بكتريوفاج تحت الميكروسكوب الاليكترونى .

يتواجد الفيروس فى صور متعددة :

١ - الفيريون Virion : وهى الصورة الوحيدة من دورة حياة الفيروس التى يمكن عزلها . وهى جسيمات منفردة توجد فى الوسط بحالة غير حية ، فليس لها القدرة على التكاثر لانها لاتحمل جميع صفات الفيروس ولكنها تمتاز بأن لها القدرة على احداث

العدوى Infection ، أى الالتصاق بجدار خلية العائل القابل للاصابة بـه ثم النفاذ الى داخلها .

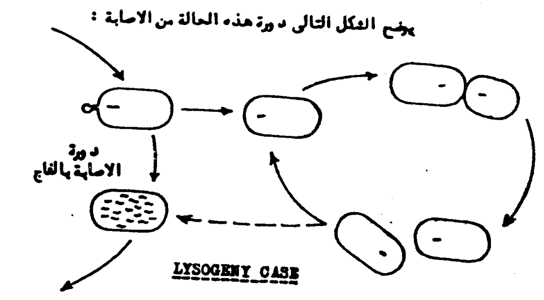
٢- البروفاج Prophage : وهو الفيروس الملتصق بكروموسوم الخلية ، وينقسم معها مع كل انقسام ، ويصبح وكأنه صفة وراثية لها ، وينتقل مع نواة الخلية عند انقسامها كجزء من تركيبها الوراثى وله صفات الجين ، ويبقى بالخلية دون أن يحللها . البروفاج ليس له القدرة على احداث العدوى او احداث التحلل للخلية .

٣- Temperate phage فيروس هادئ : وهو الفيروس الذى يتكاثر بخلية البكتريا ويبقى بها دون أن يحللها ، وينتقل معها عند انقسامها ، مع خروج فيروسات حرة الى الوسط احيانا .

خلية البكتريا الحاملة لهذا الفيروس أو للبروفاج تسمى Lysogenic bacterium وتسمى الظاهرة باسم Lysogenicity ، وهى ظاهرة وجود خلايا بكتيرية مصابة بفيروسات هادئة أو بالبروفاج .

وعلى ذلك فان البكتريا الليسوجينية تبدو سليمة ، الا أن الجزء النووى للفيروسات داخل فى تكوينها الوراثى ، وله القدرة على انتاج فيروسات (شكل رقم ٢-١٥) .

يوضح الشكل التالى دورة هذه الحالة من الاصابة :



شكل رقم (٢-١٥) : دورة الاصابة الليسوجينية .

٤- Lytic (Virulent) phages : فيروسات محللة (شديدة الحدة المرضية) : وهى الفيروسات التى تصيب الخلية البكتيرية وتتكاثر بها ثم تحللها بعد أن ينطلق العديد منها حرا الى الوسط .

تقسيم الفيروسات :-

الفيروس له صفاته الخاصة التى تجمع بين المادة الغير حية (خارج العائل) وبين الكائنات الحية (داخل العائل) وتقسيم الفيروس يعتمد على الخواص والصفات التالية للفيروس :

١ - نوع الحمض النووى : ر ن أ أو د ن أ
٢ - الشكل الهندسى للغلاف البروتينى للحمض النووى Capsid architecture .
٣ - حجم الغلاف البروتينى Capsid size .
٤ - الاغشية المحيطة بالغلاف البروتينى Membranous envelope .
٥ - عدد جدائل الحمض النووى (1 or 2) Nucleic acid strands .
٦ - أسلوب وموقع تخليق الفيروس داخل خلية العائل .
٧ - العلاقات المتبادلة بين الفيروس والعائل Host-virus interactions .

وقد امكن تبعا لذلك تقسيم الفيروسات الى ثلاث مجاميع رئيسية كما يتضح من الجدول رقم (٢-٤) .

ونظرا لان الفيروسات متطفلة اجباريا فأن وجودها فى التربة فى غياب العائل يؤدى الى أنها تكون فى حالة غير نشطة ونادرا ماتبقى فى التربة لمدة طويلة بعد غياب العائل، والانواع النادرة التى يمكنها أن تبقى فى الارض لمدة معقولة بعد غياب العائل لاتتكاثر طبعا فيها ومثل هذه الفيروسات يمكن التخلص منها فى التربة باتباع دورة زراعية مناسبة لا يزرع فيها النبات العائل التى تصيبه لفترة طويلة نسبيا أو تعامل التربة باحدى المواد الكيماوية المؤثرة على هذه الفيروسات مثل formaldehyde , Chloropicrin وغيرها .

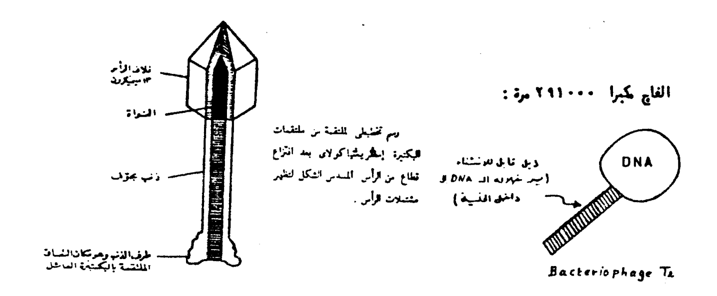
الفيروسات الممرضة للبكتريا (البكتريوفاج) :

من ناحية الفيروسات الممرضة للبكتريا فأن وجودها فى التربة قد يكون أحد العوامل المؤثرة على انتشار ونمو بعض أنواع البكتريا الهامة فى التربة . وهذه الفيروسات وتسمى البكتريوفاج يمكنها أن تغزو الخلية البكترية وهى تتميز بانها جسيمات دقيقة جدا نادرا ما يزيد قطرها عن ٠.٥ر. - ١٠ر. ميكروميتر ولها رأس وذيل .

الرأس (شكل رقم (٢-١٦) متعددة الاوجه Polyhedral head ، غالبا سداسية ، وهى عبارة عن غشاء رقيق من البروتين يوجد بداخله الحامض النووى ، أما الذيل فانه عبارة عن انبوبة من البروتين بها انزيم خاص ، ينتهى الذيل بوسادة يخرج منها خيوط .

جدول رقم (٢ - ٢) تقسيم الفيروسات .

Nucleic acid	Capsid symmetry	Naked or enveloped	Size of capsid, A°	Number of capsomers	Special features	Examples		
						Bacterial	Animal	Plant
RNA	Helical	Naked	175 × 3,000					Tobacco mosaic virus
		Enveloped	90				Myxoviruses	
			180				Paramyxoviruses	
	Polyhedral	Naked	200–250			Coliphage *f2*		
			280	32			Picornaviruses	Bushy stunt virus
			700	92	Double-stranded RNA		Reoviruses	
DNA	Helical	Naked	50 × 8,000		Single-stranded DNA	Coliphage *fd*		
		Enveloped	90–100				Poxviruses	
	Polyhedral	Naked	220	12	Single-stranded DNA	Coliphage φX174		
			450–550	72			Polyoma, papilloma	
			800–900	252			Adenoviruses	
			1,400	812			Tipula, insect viruses	
		Enveloped		162			Herpesviruses	
	Binal (polyhedral "heads," helical "tails")	Naked	Head: 950 × 650 Tail: 170 × 1,150			Coliphages T2, T4, T6		



شكل رقم (٢-١٦) : شـــكل الفـــاج .

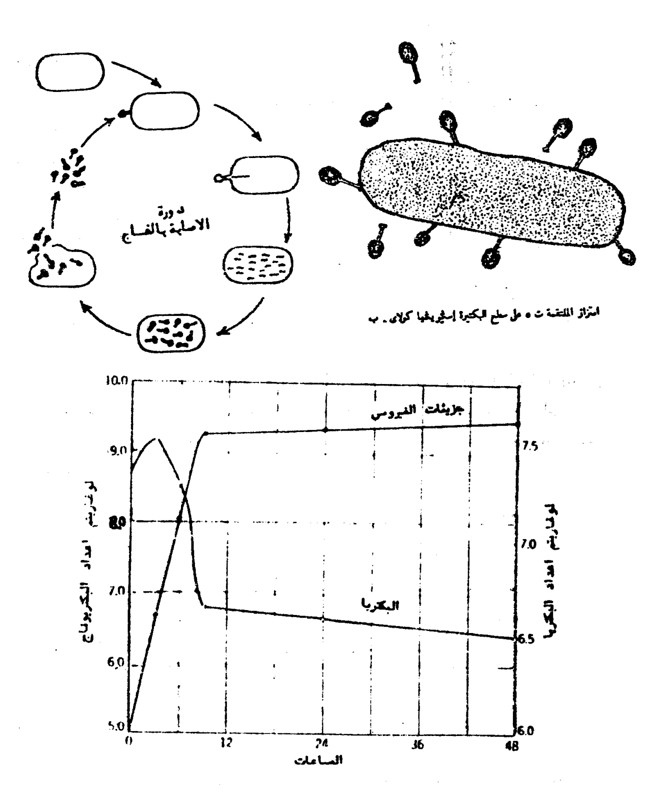
تبدأ الاصابة بالتصاق خيوط الذيل بمراكز الاستقبال بجدار خلية البكتريا ، ويخـرج من الخيوط الانزيم القادر على مهاجمة روابط كيميائية معينة بمراكز الاستقبال فيحللها ، ثم يندفع الحمض النووى للفيروس خلال الجدار الى سيتوبلازم الخلية ، وبعد ذلك يتفصـــل او لا ينفصل الغلاف البروتينى عن خلية البكتريا (شكل رقم ٢-١٧) .

فى سيتوبلازم خلية البكتريا ، يقوم الحمض النووى للفيروس بتعديل المعلومات الوراثية للخلية لتقوم بعملية البناء الخاصة بالفيروس وبتكاثره .

وعلى ذلك فأنه عند ما يغزو البكتريوفاج خلية البكتريا المتخصصة له ، فانه يتكاثر بهـــا بشدة ، وأخيرا يحدث تحلـل Lysis للخلية البكتيرية وتنطلق منها فيروسات جديـــدة قادرة على احداث العدوى لبكتيريات أخرى من نفس النوع أو تبقى ساكنة بالتربة اذا لم تجـد النوع البكترى المتخصصة له .

ويمكن مشاهدة أثر هذه الفيروسات على البكتريا بتلقيح هذه البكتريا فى بيئة آجـــار فى طبق بترى وبعد النمو يضاف الفيروس المناسب وبعد فترة يشاهد مناطق خالية من النمــو Plaques نتيجة تحلل الخلايا البكتيرية بواسطة الفيروس،ويمكن الحصول على معلق مـن هذه الفيروسات خال من البكتريا بترشيح المعلق المحتوى على البكتريا والفيروسات خـــلال احد المرشحات البكتيرية حيث أن الفيروسات كما هو معروف تمر خلال المرشحات البكتيرية .

شكل رقم (٢ - ١٧) : دورة الاصابة بالفاج .

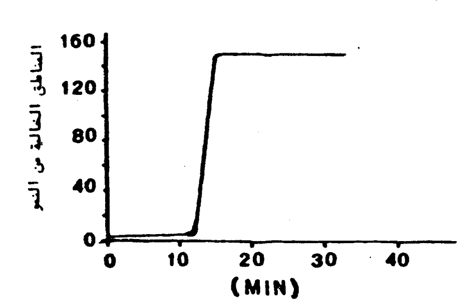


شكل رقم (٢ - ١٨) : تغيرات اعداد البكتريا والبكتريوفاج اثناء العدوى .
(From Alexander, 1982).

ولدراسة أو معرفة وجود فيروس ممرض لنوع معين من البكتريا فى التربة،يضاف جزء من هذه التربة الى مزرعة سائلة من البكتريا التى نريد معرفة وجود الفيروس الخاص بها فى التربة ثم تحضن المزرعة،فاذا وجد الفيروس فانه يغزو البكتريا الموجودة فى المزرعة ويحللها ويزداد عدده نتيجة لذلك (يخرج حوالى ١٥٠ فيروس من كل خلية مصابة) . ثم تؤخذ هذه المزرعة وترشح لفصل الفيروس من البكتريا (ان وجد) ثم يؤخذ جزء من المترشح ويضاف الى مزرعة من نفس البكتريا فأن حدث تحلل لها دل ذلك على وجود الفيروس المتخصص فى التربة . ويمكن أيضا فصل الفيروس من خلايا البكتريا المصابة باستخدام طريقة الطرد المركزى .

وفى الامكان متابعة نمو الفيروس فى المزرعة البكتيرية باستخدام طريقة النمو المعروفة باسم One step growth experiment ويكون منحنى النمو كما هو مبين بالشكل رقم (٢-١٩) التالى .

شكل رقم (٢-١٩) :



ظاهرة الـ Lysogenicity توجد فى البكتريا وفى الاكتينوميسيتس ، ويستفاد منها فى نقل صفات وراثية معينة من عائل الى آخر فيما يسمى بعملية الاستقطاع Trans-duction .

وقد بينت الدراسات أن التربة تحتوى على فيروسات ممرضة لبعض أجناس البكتريا الهامة فى التربة مثل : Aerobacter , Agrobacterium , Pseudomonas , Streptomyces , Nocardia , Azotobacter and Rhizobium.

ويعتبر وجود الفيروسات الممرضة لجنس الـ Rhizobium ذات اهمية خاصة فى التربة،حيث أن هذا الجنس هو البكتريا التى تكون العقد الجذرية Root nodules على النباتات البقولية وأهميتها معروفة فى تثبيت النيتروجين الجوى،ووجود مثل هذا الفيروس فى التربة قد يسبب تناقص اعداد بكتريا العقد الجذرية القادرة على تكوين العقد على النباتات البقولية،كما قد يسبب تحلل البكتريا الموجودة داخل العقد على النبات،مما يؤثر على تثبيت النيتروجين الجوى تعاونيا داخل النبات البقولى وهذا له اضرار اقتصادية كبيرة .

فيروسات الميكروبات الاخرى :

الفيروسات التى تهاجم الطحالب الخضراء المزرقة تشبه فى صفاتها تلك التى تصيب البكتريا ، فهى تكون Plaques على بيئة الآجار المحتوية على الطحلب العائل بسبب تحليلها له ، كما انها تشبه فيروسات البكتريا من الناحية المورفولوجية وفى طريقة الاصابة ، وتسمى الفيروسات التى تصيب الطحالب الخضراء المزرقة Cyanophage (قد تسمى احيانا Algophages ، Phycoviruses) وهى توجد مع الطحالب فى الانهار والبحيرات وأراضى الارز . ومن أجناس الطحالب الخضراء المزرقة التى تصاب بالفيروسات Nostoc, Oscillatoria , Cylindrospermum , Anabaena .

وقد لوحظ فى السنوات الاخيرة وجود فيروسات ممرضة للخمائر والفطريات والطحالب والبروتوزوا ، فهى تهاجمها وتتواجد بداخلها وقد تحللها ، وتتميز هذه الفيروسات مورفولوجيا بأنها خالية من الذيل وبذا يمكن تمييزها من هذه الناحية عن فيروسات البكتريا .

وتأثير هذه الفيروسات على خلايا العائل يتراوح مابين اصابة بدون احداث ضرر واضح للخلية ، الى احداث تشوهات فى الخلايا،الى ايقاف لنشاطها وتثبيط لحيويتها .
ومن الاجناس الفطرية التى تصاب بالفيروسات Aspergillus , Fusarium , Mucor , Penicillium , Rhizopus .

مما سبق يتضح أن وجود الفيروسات فى التربة خصوصا الممرضة للنبات والبكتريا من الممكن أن تؤثر على خصوبة التربة وانتاجيتها . وعموما فأن مدى الاضرار التى تتسبب من الفيروسات بالنسبة للعمليات الحيوية فى التربة من الصعب تقديرها بدقة .

الفصل الثالث

٣- العلاقة بين الميكروبات وخواص الاراضى والنبات

SOIL-PLANT-MICROORGANISMS RELATIONSHIPS

ومع وجود الاعداد الضخمة من الميكروبات في الارض ومعرفة مختلف العمليات الحيوية التي تستطيع هذه الميكروبات القيام بها،كثير من الباحثين الى دراسة اثر ميكروبات التربة على كل من النبات النامي والخواص الطبيعية والكيماوية للتربة . والهدف من مثل هذه الدراسات معرفة امكان الاستفادة من النشاط الميكروبي في التربة وامكانية تعديله بهدف الحصول على أعلى حاصل من تلك التربة والمحافظة على خصوبتها أو تحسينها .

ولقد أوضحت مختلف الدراسات وجود كثيرا من العلاقات المعقدة بين ميكروبات الاراضي والنبات النامي ، بعض هذه العلاقات لها تأثير مشجع لنمو النبات وبعضها لها تأثير ضار ، كما أن النشاط الحيوى لهذه الميكروبات ينعكس انعكاسا كبيرا على الخواص الطبيعية والكيماوية للتربة .

أ - تأثير الميكروبات على النبات النامي في الارض :

هناك تأثيرات عديدة مباشرة وغير مباشرة تؤثر بها ميكروبات التربة على النباتات النامية فيها وبعض هذه التأثيرات سلبى وبعضها ايجابى . ويمكن أن نعدد التأثيرات المختلفة للميكروبات على النباتات في النقاط التالية :

١) كثير من ناتجات التمثيل الغذائي للميكروبات تستخدمها النباتات كمواد غذائية لها .
٢) افراز بعض الميكروبات لمواد منظمة لنمو النباتات Growth regulators .
٣) نتيجة تحليل الميكروبات للمواد العضوية في التربة بتحول كثير من العناصر الى الصورة الميسرة للنباتات ، كما أن النشاط الميكروبي يؤدى الى اذابة كثير من العناصر غير الذائبة في التربة وتصبح قابلة للاستفادة بواسطة النباتات .
٤) تلعب كثير من ميكروبات التربة دورا مؤثرا في احباط نمو الميكروبات المرضية للنباتات أو تقليل اضرارها .
٥) بعض الميكروبات تفرز موادا سامة للنباتات .
٦) التنافس بين الميكروبات والنباتات على بعض العناصر الغذائية في التربة .

وهذه النقاط يجب أن نضيف اليها أن التأثيرات الميكروبيولوجية على الخواص الطبيعية والكيماوية للتربة رغم انها تنعكس على نمو النباتات،الا انه يجب أن نلاحظ أن هذه التأثيرات المختلفة تتداخل مع بعضها بطريقة معقدة بحيث يصعب أن نحدد مدى تأثير كل عامل منها على حدة،ويصبح النمو النباتي والمحصول محصلة للعوامل البيولوجية والطبيعية والكيماوية في التربة علاوة على الظروف المناخية وكثير من العوامل الاخرى،وبالرغم من ذلك سوف نحاول فيما يلى اعطاء نظرة على تأثير كل عامل من العوامل سابقة الذكر على النمو النباتي في الاراضى .

١) استخدام النباتات لنواتج التمثيل الغذائى للميكروبات :

عديد من نواتج التمثيل الغذائى للميكروبات تفرز فى صورة ميسرة للنباتات وتستخدمها هذه النباتات كمصادر للغذاء،ولعل من أهم العناصر فى هذا الخصوص النتروجين فمن المعروف أن النتروجين يعتبر من أهم العناصر الغذائية المحددة لنمو النباتات فى التربة . وأغلب النتروجين يوجد فى التربة فى الصورة العضوية وتمثل الصور المعدنية الميسرة للنباتات نسبة ضئيلة من النتروجين الكلى فيها،وحتى هذه النسبة الضئيلة يتم سحبها من الارض باستمرار خلال امتصاص النباتات لها أو تطايرها بواسطة العوامل البيولوجية وغير البيولوجية او غسلها الى أسفل بعيدا عن مدى جذور النباتات . ويلاحظ أنه فى التربة غير المعرضة لمؤثرات خارجية Undisturbed soil فان هناك حالة من الاتزان بين النتروجين المعدنى والنتروجين العضوى فيها . وتلعب الميكروبات دورا هاما فى المحافظة على محتوى النتروجين الكلى فى التربة والمحافظة ايضا على نسبة العنصر الميسر للنبات فيها وايضا امداد النباتات المختلفة باحتياجاتها من العنصر . ومن أول التأثيرات الهامة لميكروبات الاراضى على امداد النباتات باحتياجاتها من النتروجين هو تأثير البكتريا الخاصة بالعقد الجذرية على امداد النباتات البقولية بحاجتها من النتروجين وايضا زيادة محتوى التربة من النتروجين بعد حصاد النبات البقولى.ومن التأثيرات الهامة ايضا قدرة بعض ميكروبات التربة على تثبيت النتروجين الجوى لبناء اجسامها اثناء معيشتها الحرة فى التربة وهذه الميكروبات تعمل على زيادة النتروجين العضوى فى التربة أو تعويض جزء من الفاقد منه وهذه الميكروبات عندما تموت تكون اجسامها سريعة التحلل مما يزيد من النتروجين المعدنى الميسر للنباتات فى التربة .

والميكروبات القادرة على تثبيت النتروجين الجوى خلال معيشتها الحرة فى التربة تتضمن عديد من الاجناس سوف تناقش فى موضعها .

ومن ناحية اخرى فان ميكروبات التأزت Nitrifying bacteria خلال عمليات التمثيل الغذائى لها للحصول على الطاقة،تلعب دورا فى زيادة قابلية النتروجين فى التربة للاستفادة بواسطة النباتات المختلفة عن طريق اكسدتها لمركبات الامونيوم فى التربة الى نترات . كما تلعب الميكروبات المحللة للبروتينات وغيرها من صور النتروجين العضوى دورا مؤثرا فى امداد النباتات باحتياجاتها من النتروجين . كما ان الميكروبات تقوم بمعدنة كل من مركبات الكبريت والفوسفور العضوى وتحولها الى صور ميسرة للنباتات . كما تقوم فطريات الـ Mycorrhiza بدور كبير فى امتصاص الفوسفات وامداد جذور النباتات بها خصوصا فى الاراضى الفقيرة فى الفوسفات القابل للاستفادة بواسطة النباتات كما تلعب هذه الفطريات نفس الدور بالنسبة للبوتاسيوم وغيره من العناصر الاخرى .

٢) افراز الميكروبات لمواد منظمة لنمو النبات :

Production of growth regulators

تعرز كثير من ميكروبات التربة موادا تحدث تغيرات فى نمو النباتات . فلقد لاحظ عديد من الباحثين ان نسبة كبيرة من ميكروبات التربة تستطيع تكوين اندول حامض الخليك Indole acetic acid ، وهذا المركب كما هو معروف له تأثير منظم لنمو النباتات . ولقد فسر بعض الباحثين التأثير المشجع للازوتوباكتر Azotobacter على نمو النباتات بأنه ليس راجعا فقط الى قدرته على تثبيت النتروجين الجوى، وانما ايضا لقدرته العالية على افراز الاوكسنات Auxins وخصوصا اندول حامض الخليك التى تزيد من انبات البذور ونمو النباتات . كما لوحظ ايضا أن الازوتوباكتر تنتج كميات كبيرة من حامض الجبرلليك Gibberellic acid . وعموما فان قيام بعض الميكروبات فى التربة بتحليل الهرمونات ومنظمات النمو التى تفرزها الميكروبات الاخرى يجعل من الصعب معرفة الكميات التى تكونها الميكروبات فى التربة بدقة كما يصعب تعميم تأثيرها على نمو النباتات .

٣) اذابة الميكروبات لكثير من العناصر الغذائية اللازمة للنباتات :

يستطيع كثير من ميكروبات التربة اذابة بعض العناصر الغذائية الموجودة فى التربة وبذا تصبح فى صورة معدنية ذائبة، ومن أهم هذه المواد التى تعمل الميكروبات على اذابتها الفوسفات والسليكات وتؤدى عمليات الاذابة الى تحول كل من الفوسفور والبوتاسيوم (من السليكات) الى صورة ذائبة ميسرة للنباتات ويرجع الذوبان الى افراز الميكروبات للاحماض العضوية والتى من أهمها احماض : 2-Kete gluconic, citric, oxalic, lactic, etc.

٤) اثر ميكروبات التربة على الميكروبات الممرضة للنبات :

لما كان كثير من الميكروبات الممرضة للنباتات تعيش فى التربة مترممة لفترات مختلفة قبل وصولها الى النبات العائل واحداثها للمرض ، فانه من المتوقع ان العلاقات الحيوية السائدة فى التربة سوف تؤثر على هذه الميكروبات . ولقد اظهرت عديد من الدراسات أن كثيرا من ميكروبات التربة العادية تستطيع احباط نمو كثير من الميكروبات المرضية وقد لوحظ أن اضافة المواد العضوية للتربة يزيد من اعداد الميكروبات التى تفرز موادا مضادة للامراض النباتية، وتتضمن الميكروبات المؤثرة فى هذا الخصوص عديد من البكتريا والاكتينومايسيتات Actinomycetes والفطريات كما أن قدرة بعض الميكروبات على انتاج الاحماض يقلل من الاصابة ببعض الامراض مثل مرض جرب البطاطس Potato scab . وقد

لوحظ ايضا ان بعض السلالات النباتية المقاومة للامراض يعزى مقاومتها الى أن جذورها تشجع نمو ميكروبات قادرة على انتاج المضادات الحيوية حولها . ومن أكثر الامثلة وضوحا عن تأثير ميكروبات التربة على امراض النبات مالاحظه (Huber and Anderson, 1966)* حيث تبين لهما انه عند تنمية بكتريا Xanthomonas مع فطر *Fusarium solani* المسبب لامراض عفن الجذور فى الفول والفاصوليا (beans) فان البكتريا تنموا نموا غزيرا حول هيفات الفطر ويحدث تكتل Agglutination للهيفات وتتكون داخلها صبغة حمراء قرمزية Reddish purple ثم تموت الهيفات بعد ذلك . ولقد تبين ايضا أن نمو بكتريا *Xanthomonas* sp. فى التربة يشجعه زراعة هذه التربة بالذرة (Corn) بينما زراعتها بالشعير لا يشجعه وقد اتضح بناء على ذلك ان شدة مرض عفن الجذور تكون قليلة عند زراعة النباتات القابلة للاصابة بعد الذرة،وقد افترض ان نبات الذرة يحدث تغيرات فى الوسط يجعله اكثر ملائمة لنمو Xanthomonas . ومثل هذه الدراسة توضح أنه يمكن عن طريق احداث تغيرات فى الوسط زيادة اعداد الميكروبات المفرزة للمضادات الحيوية فى التربة مما يقلل الاصابة بالامراض النباتية . والتغيرات فى الوسط Environment يمكن احداثها بالتسميد الاخضر أو السماد العضوى أو زراعة نباتات معينة أو اضافة عناصر معينة للتربة .

ولعل من اوضح الامثلة ايضا على قدرة بعض الميكروبات على تقليل الاضرار الناتجة من الامراض النباتية ، ما هو معروف من أن اضافة الكبريت للتربة يقلل من الاصابة بمرض جرب البطاطس Potato scab ، حيث تقوم بكتريا اكسدة الكبريت بتكوين كميات من حمض الكبريتيك والحموضة المتكونة تحبط نمو الميكروب الممرض . كما لوحظ أن الاكتينومايسيتات المنتجة للمضادات الحيوية يمكن أن تقلل الاضرار التى تتعرض لها جذور بادرات القمح المتسبب عن فطر *Helminthosporium sativum* اذا مالقحت هذه الاكتينومايسيتات فى التربة . كما لاحظ البعض أن الفطر *Trichoderma viride* يمكنه التطفل على هيفات *Helminthosporium sativum* وغيره من الميكروبات المرضية .

٥) افراز الميكروبات لمواد سامة للنباتات :

تستطيع بعض الميكروبات المرضية وغير المرضية التى تعيش فى التربة افراز مواد ذات اثر ضار بالنباتات،وهذه المواد تتضمن عديدا من المركبات العضوية والمضادات الحيوية والاحماض الامينية والـnitrite , H_2S ,كما ان الميكروبات خلال تحليلها للمواد العضوية قد تكون موادا ضارة بالنباتات تتضمن hydrogen cyanide , alkaloids , ammonia , organic acids , aldehydes , phenols , lactones , mustard oil , etc. .

---

* c.a. Alexander, 1971.

ولكن يجب أن نلاحظ أن هذه المواد المختلفة المعروفة بتأثيرها الضار على النباتات تحدث تأثيرها عادة عند وجودها بتركيزات قليلة جدا لذلك فانه من الصعب قياس كمياتها في التربة . كما يجب أن نلاحظ أن بعض المواد قد تكون سامة بتركيزات معينة ولكنها في نفس الوقت قد تكون منشطة للنباتات في تركيزات اقل واحسن الامثلة على ذلك الامونيا والجبريلينات .

وعلى العموم فأن تكوين المواد السامة في التربة يرتبط باضافة مواد عضوية بنسبة عالية في الظروف السيئة التهوية ومرتفعة الرطوبة . وقد لوحظ أن الاثر يكون أكبر مايمكن خلال ١ - ٣ أسابيع من اضافة المادة العضوية . وعلى ذلك فأنه لتقليل احتمال حدوث اضرارا للنباتات من مثل هذه المواد يجب أولا أن تكون اضافة المادة العضوية بنسبة معقولة وأن تكون التربة جيدة التهوية على أن تضاف المادة العضوية قبل الزراعة بفترة كافية .

ومن الامثلة الواضحة لافراز بعض ميكروبات التربة موادا سامة للنباتات المرض المسمى Frenching في نباتات الدخان،والنبات المريض بهذا المرض يكون كثيرا من الجذور الثانوية الجانبية Axillary roots وأوراق غير عادية . وقد فسر البعض سبب ذلك على اساس أنه نتيجة لتوكسين toxin تكونه بكتريا *Bacillus cereus*، وهذا التوكسين يؤدى الى تراكم isoleucine وغيره من الاحماض الامينية في صورة حرة في النبات مما يؤدى الى حدوث المرض .

٦) التنافس بين الميكروبات والنباتات على بعض العناصر الغذائية في التربة :

لما كانت الميكروبات اسرع نموا واكثر كفاءة في امتصاص العناصر الغذائية مقارنة مع الكائنات الحية الراقية،لذلك فمن المتوقع حدوث علاقة تنافسية بينها وبين النباتات على بعض العناصر الغذائية في التربة . وقد يكون هذا التنافس اكثر وضوحا عند سيادة الظروف اللاهوائية حيث انه في مثل هذه الظروف فأن قدرة الجذور على امتصاص العناصر تتأثر لحد كبير،بينما يلاحظ أن جزءا كبيرا من ميكروبات التربة تستطيع أن تنمو بكفاءة تحت هذه الظروف،وكأحد الامثلة على ذلك قدرة ميكروبات Denitrifers على استخدام النترات بكفاءة في هذه الظروف مما يقلل من مستواها في التربة .

وعلاوة على هذا فأنه في حالة وجود عنصر بكمية قليلة في التربة فأن النشاط الميكروبي قد يؤثر على قدرة النبات على أخذ احتياجاته من هذا العنصر . كما تظهر العلاقة التنافسية بين الميكروبات والنباتات خلال عمليات الـ immobilization والتي فيها تأخذ الميكروبات العناصر الغذائية المعدنية الميسرة من التربة وتستخدمها في بناء أجسامها مما يؤثر على جاهزيتها للنباتات . ويكون هذا التأثير اكثر وضوحا عند اضافة مادة عضوية فقيرة في النتروجين أو الفوسفور أو الكبريت أو غيره من العناصر الى التربة قبل الزراعة بفترة

قليلة فنلاحظ فى هذه الحالة أن الميكروبات التى تقوم بتحليل هذه المادة العضوية تلجأ للعناصر المعدنية الذائبة فى التربة لاخذ احتياجاتها نظرا لفقر المادة العضوية المضافة مما يقلل من نسبة العناصر الميسرة للنباتات فى التربة .

ب ـ تأثير الميكروبات على خواص التربة الطبيعية والكيماوية :

١ ـ تلعب ميكروبات التربة دورا هاما فى تحسين الخواص الطبيعية للاراضى عن طريق دورها الفعال فى تكوين البناء الجيد ، بتجميعها للحبيباتAggregation ، فالاكتينومايسيتات والفطريات تعمل شبكة من الميسليوم تتخلل حبيبات التربة وتربطها مع بعضها وتؤدى الى تماسكها . ولقد لوحظ ان التربة تحتوى على ٣٨ مترا من خيوط الفطريات/جم فى المتوسط وتؤدى اضافة مصادر كربوهيدراتية سهلة التحلل الى التربة الى زيادة كبيرة فى اطوال خيوط الفطريات وكثافتها . وعلاوة على هذا التأثير الميكانيكى لميسليوم الاكتينومايسيتات والفطريات فى ربط حبيبات التربة،فأن كثيرا من نواتج التفاعلات الحيوية فى التربة تلعب دورا رئيسيا فى ربط الحبيبات وتكوين البناء الجيد ومن العوامل الرئيسية التى تؤدى الى ربط وتماسك الحبيبات الآتى :

أ ـ نواتج التحليل الميكروبيولوجى للبقايا النباتية والحيوانية المضافة الى التربة.

ب ـ كثير من نواتج التمثيل الغذائى للبكتريا والفطريات تعمل كمواد لاصقة للحبيبات .

جـ ـ دور الدبال الذى يتكون نتيجة للنشاط البيولوجى من المواد العضوية المضافة للتربة .

ويظهر الاثر الواضح للنشاط البيولوجى فى ربط حبيبات التربة وتكوين البناء الجيد من معرفتنا أنه بعد فترة قصيرة من اضافة المواد العضوية للتربة فان البناء يتحسن كثيرا وهذا طبعا راجع للكميات الكبيرة من المواد اللاصقة التى تتكون اثناء تحلل المواد العضوية أو التى تكونها الميكروبات اثناء التمثيل الغذائى .

ولقد لاحظ عديد من الباحثين أن السكريات العديدة والمواد اليورونية المعقدة Polysaccarides and polyuronides التى تكونها انواع من الميكروبات اثناء تمثيلها الغذائى،لها الدور الاساسى فى تجميع الحبيبات Aggregation ، وهذه الابحاث ادت الى الاعتقاد أن الصموغ التى تكونها الميكروبات هى المادة اللاصقة الاساسية للحبيبات .

ومن ناحية اخرى فيجب أن نلاحظ أن المواد اللاحمة سواء المتكونة اثناء تحلل المواد العضوية أو التى تتكون اثناء التمثيل الغذائى للميكروبات كلها مواد عضوية ولذلك فهى ايضا عرضة لان تهاجمها الميكروبات وتتغذى عليها فى بعض الظروف ، وهذا قد يكون له تأثيره فى تفرقة الحبيبات المتجمعة .

٢ - يؤدى النشاط الميكروبى فى التربة الى حدوث تغيرات كثيرة فى صور العناصر الرئيسية الضرورية فى التربة والتأثير على حالة جهازيتها سلبا او ايجابا ، فالميكروبات تحدث معدنة للمواد النيتروجينية والفوسفورية والكبريتية وغيرها فى التربة وتحولها من الحالة العضوية الى الحالة المعدنية الجاهزة للنبات . وفى أحوال اخرى قد تلجأ الميكروبات الى العناصر المعدنية الجاهزة الموجودة فى التربة وتستخدمها فى بناء اجسامها خصوصا عند توفر مواد عضوية فى التربة فقيرة فى هذه العناصر وهذا يؤدى الى تحول العناصر المعدنية الى صور عضوية غير جاهزة للنبات Immobilization .

٣ - يؤدى النشاط الميكروبيولوجى الى تراكم الاحماض العضوية و CO_2 حول اماكن نشاط الميكروبات فى الوسط الدقيق Micro-habitat وهذا يساعد على اذابة كثير من العناصر المعدنية غير الذائبة ويرفع نسبتها فى محلول التربة ويزيد جهازيتها للنبات .

٤ - يؤدى النشاط الحيوى فى التربة الى حدوث تغيرات واضحة فى نسب الغازات فى هواء التربة حيث تزداد نسبة CO_2 وتقل نسبة الاكسوجين عن الجو الخارجى .

٥ - يؤدى النشاط الميكروبى خصوصا فى حالة وجود نسبة عالية من المواد العضوية السهلة التحلل الى تغيير فى جهد الاكسدة والاختزال Oxidation reduction potential (Eh) فى التربة الى الناحية المختزلة . وهذا ينعكس على صور بعض العناصر القابلة لتفاعلات الاكسدة والاختزال فى التربة مثل الحديد ، فأن أيون الحديديك Ferric غير الذائب يتحول الى حديدوز ذائب عند انخفاض الـ Eh .

٦ - تحدث الميكروبات تفاعلات اكسدة واختزال مختلفة لعديد من العناصر مما يؤثر تأثيرا واضحا على جهازية هذه العناصر فى التربة ، فمثلا اكسدة المنجنيز بيولوجيا يجعله فى صورة غير صالحة لامتصاص النبات ، واكسدة الزنك تؤدى الى ظهور اعراض نقصه على النبات .

واختزال كل من النترات والكبريتات والفوسفات يقلل من جاهزيتها او تحولها الى صور غير جاهزة للنبات .

٧ - قد يلعب النشاط البيولوجى عند سيادة الظروف اللاهوائية دورا فى حدوث القلوية فى بعض الاراضى .

جـ - تأثير الزراعة والعمليات الزراعية على النشاط البيولوجى فى الاراضى :

تعتبر جذور النباتات النامية مصدرا مستمرا للعناصر الغذائية اللازمة لنشاط ونمو احياء التربة وتتمثل المصادر الغذائية فى انسجة الجذور وافرازاتها والاجزاء المتقطعة منها خلال نموها وزيادتها فى السمك . كما تؤثر الجذور فى الوسط المحيط بها تأثيرات عديدة لذلك فأن المنطقة المحيطة بالجذور يختلف معدل النشاط الحيوى فيها كما ونوعا عن التربة البعيدة عن الجذور وهذا طبعا يؤثر على النشاط البيولوجى فى التربة ككل ، مقارنة مع التربة غير المنزرعة . ومدى هذه التأثيرات يختلف حسب نوع النبات النامى وعمره ومدى كثافة النباتات المنزرعة،فقيام الجذور بامتصاص بعض العناصر من التربة بدرجة اسرع من البعض الآخر يغير من نسب هذه العناصر فى الوسط المحيط بالجذور كما أن الجذور تخرج كميات كبيرة من CO_2 وهذا يؤثر على الـ pH حول الجذور ويساعد على ذوبان بعض العناصر غير الذائبة. كما يلاحظ أن البقايا العضوية التى تتبقى فى التربة بعد حصاد المحصول تعتبر احد مصادر المادة العضوية فى التربة .

كما يلاحظ أن زراعة التربة يرتبط بكثير من العمليات الزراعية وهذا بالطبع ينعكس اثره على نشاط واعداد الاحياء الدقيقة فى التربة ، وفيما يلى بعض تأثيرات العمليات الزراعية المختلفة على الميكروبات :

١ - عمليات اعداد التربة للزراعة وعمليات الخدمة مثل الحرث والعزق لها تأثير واضح على نشاط الاحياء الدقيقة لما لها من تأثيرات على التهوية وبناء التربة .

٢ - الدورة الزراعية وتعاقب المحاصيل لها تأثير كبير على ميكروبات التربة فمن المعروف أن افرازات الجذور لها تأثير كبير على نوعية ونشاط الاحياء ، والنباتات المختلفة تختلف فى التركيب الكيماوى لافرازاتها وبذلك تختلف نوعية الميكروبات تحت المحاصيل المختلفة كما أن المجموع الجذرى يختلف فى مدى تعمقه ومدى انتشاره من محصول لآخر . لهذا فأن تنوع المحاصيل يؤدى الى تشجيع أنواع مختلفة من الميكروبات فى اعماق مختلفة من التربة .

٣ - التسميد بالاسمدة العضوية يمد الميكروبات بالغذاء اللازم ومصادر الطاقة اللازمة لنموها ونشاطها ويساعد فى تحسين بناء التربة وخواصها الطبيعية والكيماوية،والاسمدة المعدنية

ايضا تساعد على رفع مستوى العناصر الرئيسية فى التربة،وكل هذا ينعكس على نشـــاط واعداد الاحياء الدقيقة فيها .

٤ ـ معاملة التربة الحامضية بالجير Lime ومعاملة التربة القلوية بالجبس والكبريت وازالة ملوحة التربة الملحية يحسن من نمو ونشاط الاحياء .

٥ ـ الصرف يعتبر احد العوامل الهامة التى تساعد على تهوية التربة والتخلص من الامـــلاح الضارة بها مما يساعد على زيادة نشاط الاحياء .

كل هذه العوامل مجتمعة تؤدى الى أن تحتوى الاراضى المنزرعة على عدد اكبر ونشاط اعلى من الاحياء الدقيقة عن الاراضى غير المنزرعة وكذلك عن الاراضى البكر .

د ـ تأثير خواص التربة على النشاط الميكروبيولوجى :

١) يؤثر قوام التربة تأثيرا كبيرا على انواع واعداد الاحياء السائدة فى التربة،فكلما كان القوام Texture طينيا ثقيلا كلما سادت الظروف اللاهوائية وقلت سرعة تحلــــل المواد العضوية،كما أن وجود نسبة عالية من الطين فى الاراضى ذات القـــــوام الثقيل يؤدى الى ادمصاص كثير من المواد العضوية وتقلل من سرعة تحللها . كما تدمص الانزيمات التى تفرزها الميكروبات على الطين والمواد الغروية مما يقلـل من سرعة التفاعلات الحيوية .

اما اذا كان القوام خفيفا فان هذا يسرع من التفاعلات الحيوية وتحلل المواد العضوية وتسود الظروف الهوائية وهى الظروف المناسبة للنشاط الميكروبيولوجـــــى الامثل .

اما اذا كانت التربة خفيفة جدا كما فى التربة الرملية فان النشاط الميكروبيولوجى يكون فيها ضعيف وذلك لفقرها فى العناصر المعدنية والمواد العضوية اللازمـــة للنشاط الميكروبيولوجى وقلة قدرتها على الاحتفاظ بالرطوبة .

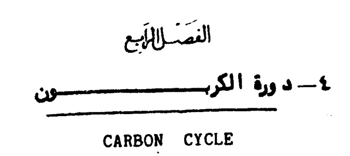
٢) يؤثر pH التربة تأثيرا كبيرا على نوعية ومعدل النشاط البيولوجى فيها . فمـــن المعروف أن أغلب انواع بكتريا التربة تعيش فى درجة pH قريبة من التعـــــادل pH 6-8 ، لذلك فان انخفاض الـ pH او ارتفاعه عن هذا المستوى يؤثر تأثيرا سيئا على معدل النشاط البيولوجى فيها،ففى الاراضى الحامضية تسود الفطريـات وتقل البكتريا وتتراكم المواد العضوية بنسب عالية كما فى حالة الـ peat soil . وفى الاراضى القلوية تؤدى الظروف السائدة فيها الى توقف كثير من العمليــــات الحيوية الهامة ونقص شديد فى اعداد الميكروبات،لذلك فان استصلاح الاراضـــى القلوية بالجبس أو الكبريت أو اضافة الجير lime للاراضى الحامضية يزيد مـــن معدل النشاط البيولوجى .

٣) يؤثر نوع البناء السائد في التربة ايضا على معدل النشاط البيولوجي فيها ولذلك فان الاراضي سيئة البناء تكون فيها التهوية رديئة وهذا يحد من نشاط الكائنات الحية فيها بينما البناء الجيد يساعد على التهوية وينشط الاحياء الدقيقة ومختلف التفاعلات الحيوية في التربة .

٤) يؤثر مستوى المادة العضوية في التربة تأثيرا كبيرا على معدل النشاط الحيوي فيها،فالمادة العضوية هي المخزن الاساسي الذي تستمد منه الميكروبات احتياجاتها الغذائية ـ كما تتأثر الميكروبات بنوعية المادة العضوية وتركيبها الكيماوي فالمواد العضوية الكربوهيدراتية تشجع الانواع المحللة لها كالمحللة للسليلوز أو النشا أو البكتين . . الخ ، اما المواد البروتينية فأنها تشجع الانواع المحللة للبروتينات .

٥) تؤثر قدرة التربة على امداد العناصر المختلفة على معدل النشاط البيولوجي فيها ووجود نقص في احد العناصر الضرورية ينعكس على معدل النشاط الحيوي واضافة هذا العنصر الناقص الى التربة يسرع من العمليات الحيوية .

٦) تؤثر ملوحة التربة تأثيرا سيئا على معدل التفاعلات الحيوية وعلى اعداد الميكروبات في التربة،لذلك فأن ازالة الملوحة من التربة تسرع من العمليات الحيوية .



٤ـ دورة الكربـــــــون

CARBON CYCLE

تحلل المواد العضوية فى التربة عموما : Organic matter decomposition

المواد العضوية تصل الى التربة من مصادر عديدة وتعتبر البقايا النباتية من أهم مصادرها،حيث يدخل فى التربة أثناء نمو النبات كثير من المواد العضوية من أوراق النبات المتساقطة الى قلف الاشجار الى بقايا وافرازات الجذور ، كما تتبقى فى التربة نسبة لا بأس بها من بقايا النباتات بعد الحصاد خصوصا الجذور ، كما تضاف المواد العضوية للتربة فى صورة اسمدة سواء من مصادر نباتية أو حيوانية . ويتضح من هذا أن أهم مصادر المواد العضوية فى التربة هى البقايا النباتية .

بالنسبة للتركيب الكيماوى للبقايا النباتية وهى المصدر الاساسى للمواد العضوية التى تضاف الى التربة ، فمن الملاحظ أن تركيبها يختلف كثيرا من نبات الى آخر بل أن هذا التركيب يختلف فى النبات الواحد باختلاف العمر . ولكن على العموم فأن البقايا النباتية تحتوى على المركبات العضوية الرئيسية الآتية :

سليولوز	Cellulose	١٥ - ٦٠ ٪
هيميسليولوز	Hemicellulose	١٠ - ٣٠ ٪
لجنين	Legnin	١٠ - ٣٠ ٪
بروتين واحماض نووية	Proteins & nucleic acids	٢ - ١٥ ٪
مواد قابلة للذوبان فى الماء تتضمن احماض امينية واحماض عضوية وسكريات بسيطة وغيرها		٥ - ٣٠ ٪
رماد (عناصر معدنية)		١ - ١٣ ٪
ليبيدات ودهون وزيوت وشموع		١ - ٢٥ ٪

وعلى العموم فان نسبة المواد القابلة للذوبان فى الماء تقل مع تقدم النبات فى العمر كما تقل نسبة البروتين والاحماض النووية وترتفع نسبة المواد المعقدة .

وعندما تصل المواد العضوية الى التربة أو تضاف اليها فانها تتعرض مباشرة للنشاط البيولوجى حيث تقوم الميكروبات بتحليلها للحصول على الطاقة أو لتمثيل مكوناتها لبناء أنسجة ميكروبية جديدة.ومكونات المادة العضوية المضافة للتربة لاتتحلل كلها بسرعة واحدة فالمواد القابلة للذوبان فى الماء اسرعها فى التحلل يليها النشا والسليولوز ثم الهيميسليولوز ويعتبر اللجنين أبطؤها فى سرعة التحلل،وعادة مايلاحظ أنه بعد فترة التحلل السريع يبطأ معدل التحلل وتختفى الانسجة النباتية وتتكون مادة عضوية لها صفات جديدة حيث يدخل فى

تركيبها المواد المقاومة للتحلل ونواتج التمثيل الغذائي للميكروبات فى تركيب معقد وهو الدبال Humus .

والمادة العضوية الكربونية عند ما تتعرض للتحلل الميكروبى فان نسبة كبيرة من المواد الكربونية تتحول الى CO_2 نتيجة لاكسدتها بيولوجيا، ولقد قدر أنه فى خلال فترة ٦ شهور فأن حوالى ٦٠ ٪ من كربون المادة العضوية المضافة يفقد، ثم بعد ذلك يستمر الفقد ولكن بسرعة اقل ، وعلى ذلك فأنه أثناء تحلل المادة العضوية بالارض ، يحدث نقص واضح فى محتواها من الاكسجين مع زيادة كبيرة فى محتواها من ك أ٢ ، وفى نفس الوقت فأن جهد الاكسدة والاختزال Eh ينخفض وبذلك يصبح الوسط مختزلا . ويحدث هذا ايضا فى الاراضى الغدقة حيث يختفى الاكسجين وينخفض رقم Eh ، فاذا ما اضيف الى هذه الاراضى الغدقة مادة كربوهيدراتية فان الانخفاض فى رقم Eh يزداد كما يزداد استهلاك الاكسجين اثناء تحلل تلك المواد العضوية وتتكون مواد مختزلة .

وتعتمد سرعة تحلل المادة العضوية المضافة وفقد مابها من مواد كربونية اساسا على نسبة النيتروجين فى البقايا النباتية أو بمعنى أصح على نسبة الكربون : النيتروجين فيها C/N ratio ، فاذا كانت المادة العضوية غنية بالنيتروجين (او نسبة C/N ratio ضيقة) فان الميكروبات التى تقوم بتحليلها تجد فيها ما يكفيها من النيتروجين لبناء اجسامها وبذلك تكون عملية التحلل نشطة . أما اذا كان العكس فأن عملية التحلل تكون بطيئة وفى هذه الحالة فأن اضافة مصدر نيتروجينى خارجى يسرع من معدل التحلل . وبالرغم من أن عملية التحلل تكون اسرع فى المادة العضوية الغنية بالنيتروجين عن الفقيرة الا أن معدل الفقد فى الكربون فى النهاية يكون أقل فيها وكمية الدبال المتكونة تكون اكبر . وعموما فأن موضوع الـ C/N ratio سوف يناقش بتفصيل اكبر فيما بعد .

ويؤثر على معدنة كربون المادة العضوية نوع وكمية الطين Clay الموجود بالتربة الزراعية اذ أن الطين يدمص الكثير من المواد العضوية كما يدمص الانزيمات المحللة التى تفرزها الميكروبات وقد يدمص البكتريا نفسها ، ولذلك فأن سرعة تحلل المادة العضوية يقل نسبيا فى وجود الطين .

وتستخدم الميكروبات مكونات المادة العضوية الكربونية التى تحللها لهدفين اساسيين وهما تمثيل جزء منها لبناء اجسام الميكروبات ، والتحلل أو الاكسدة للحصول على الطاقة مكونة CO_2 ونواتج اخرى منها .

تحتوى اجسام الميكروبات فى المتوسط على ٥٠ ٪ كربون تستمده من الوسط التى تنمو فيه وتسمى عملية بناء الكربون فى اجسام الميكروبات تمثيل الكربون Carbon assimilation وتحت الظروف الهوائية فان ميكروبات التربة عموما تستخدم ٢٠ - ٤٠ ٪ من كربون

المادة العضوية التى تحللها لبناء اجسامها والباقى يتحول الى CO_2 أو الى نواتج ثانوية احرى لعملية التمثيل . وتعتبر الفطريات اكثر كفاءة عن غيرها من الميكروبات فى تمثيل المادة العضوية الكربونية لبناء اجسامها فهى تمثل ٣٠ - ٤٠ ٪ من كربون المادة العضوية ، اما البكتريا الهوائية فهى تمثل ٥ - ١٠ ٪ فقط ، اما الميكروبات اللاهوائية فهى أقل كفاءة فى استخدام الغذاء الكربونى حيث تمثل ٢ - ٥ ٪ فقط من كربون المادة العضوية التى تستخدمها.

والارقام السابقة قد يكون لها اهمية خاصة من وجهة نظر تغذية النبات وخصوبة التربة فالمكروبات عند تمثيلها لكربون المادة العضوية لبناء اجسامها لاتبنى خلاياها من الكربون فقط ولكنها تحتاج ايضا الى نيتروجين ، فوسفور ، بوتاسيوم ، كبريت وغيرها من العناصر الضرورية لنموها ، تأخذها من المادة العضوية المتحللة فاذا كانت المادة العضوية غنية بهذه العناصر فان المكروبات تأخذ منها مايكفيها والباقى يحدث له معدنة Mineralization ، ويتحول من الصورة العضوية الى الصورة المعدنية الميسرة للنبات ، اما اذا كانت المادة العضوية فقيرة فى هذه العناصر فأن المكروبات تلجأ الى العناصر الموجودة فى التربة فى صورة ميسرة وتأخذها لبناء اجسامها وبذلك تحولها من الصورة المعدنية الى الصورة العضوية غير الميسرة للنبات وتسمى هذه العملية Immobilization ، لذلك فمن المهم معرفة كمية الكربون التى تمثل فى اجسام الميكروبات من المادة العضوية ونسب العناصر المختلفة الضرورية فى أجسام الميكروبات وفى المادة العضوية المضافة،حتى يمكننا تحديد اتجاه التحلل بالنسبة للعناصر المختلفة،وعلى اساس ذلك يتقرر تأثير اضافة المادة العضوية على العناصر المختلفة وانعكاس ذلك على النبات،واذا كانت المادة العضوية فقيرة فى عنصر معين مثل النيتروجين فأنه اما ان يضاف معها نيتروجين لتعويض النقص أو تضاف المادة العضوية قبل الزراعة بفترة حتى تمر فترة التحلل السريع قبل الزراعة وتقل نسبة الكربون : النيتروجين فيها .

ومن المهم أن نعرف أن النقص الذى يحدث فى العناصر المختلفة نتيجة عملية الـ Immobilization هو نقص مؤقت لان الميكروبات التى تمثل هذه العناصر فى احسامها سوف تموت بعد فترة وتتحلل ويخرج مابها من عناصر مختلفة فى صورة معدنية ميسرة للنباتات ، وايضا فأنه اثناء عملية التحلل تقل نسبة الكربون تدريجيا نتيجة تصاعد CO_2 باستمرار وبالتالى تضيق نسبة الكربون الى العناصر الاخرى فى المادة العضوية المتحللة لذلك فأن الميكروبات النامية فى مراحل تحلل المادة ، تجد فيها مايكفيها من العناصر المختلفة لارتفاع نسبتها مقارنة بالكربون،وهذا يوضح اهمية اضافة المادة العضوية الفقيرة فى العناصر وخصوصا النيتروجين قبل الزراعة بفترة حتى لايعانى النبات نقصا فى العناصر الميسرة .

أوضحنا فيما سبق عملية تمثيل الكربون فى اجسام الميكروبات واهميتها التطبيقية ، اما من ناحية التحلل وانتاج CO_2 نتيجة لاكسدة المادة العضوية بواسطة الميكروبات للحصول على الطاقة فأن هذه العملية تعتبر من أهم العمليات البيولوجية فى حياتنا فأن الكميات الضخمة من CO_2 التى تتصاعد من التربة باستمرار (ومن البحار والمحيطات ايضا) نتيجة للنشاط الميكروبيولوجى تعتبر اساسا لاستمرار الحياة على هذا الكون ،حيث تعوض الفقد فى CO_2 الذى يحدث نتيجة لاستهلاكه باستمرار فى عمليات التمثيل الضوئى بواسطة النباتات الراقية وغير الراقية ، وبذلك تبقى نسبته ثابتة فى الجو كأساس لاستمرار الحياة .

ان التحلل وانتاج CO_2 صفة مشتركة لكل الميكروبات الهيتروتروفية Heterotrophic فى التربة وهذه تمثل اغلب ميكروبات التربة لذلك فأن انتاج CO_2 كثيرا مايتخذ دليلا او مقياسا لمعدل النشاط البيولوجى فى التربة،وعادة يتم قياس CO_2 الناتج بامرار هواء خالى من CO_2 على عينة التربة عند درجة حرارة ثابتة ورطوبة ثابتة ثم يقدر CO_2 فى الهواء الخارجى من التربة بطريقة قياس مناسبة .

أن معدل خروج CO_2 يختلف كثيرا من تربة الى اخرى حسب معدل النشاط البيولوجى فيها وعادة مايزداد كثيرا فى الفترة الاولى بعد اضافة مادة عضوية الى التربة ويستمر خروج CO_2 من التربة بمعدل عالى حتى اختفاء المادة السهلة التحلل ثم يعود الى مستواه الطبيعى المميز لهذه التربة،ولكن خروج CO_2 لا يتوقف ابدا فى التربة الطبيعية حيث تستخدم الميكروبات الدبال كمصدر للكربون للاكسدة وبناء اجسامها . ولقد قدر أن الكمية من CO_2 التى تخرج من التربة غير المعاملة بمادة عضوية جديدة (أى من تحلل الدبال) تصل الى ٥ - ٥٠ ملليجرام/كجم تربة فى اليوم على درجة ٢٠ - ٣٠°م وهذه النسبة تزداد بارتفاع درجة الحرارة او اضافة مادة عضوية للتربة . وهذه النسبة السابقة تعادل ٥ - ٥٠كجم للفدان فى اليوم فى الفصول الدافئة بمتوسط ١٠ - ١٥ كجم/فدان يوميا طول العام،وهذا يوضح لنا مدى الكميات الضخمة من CO_2 التى تلفظها التربة يوميا فى العالم نتيجة للنشاط الميكروبيولوجى فيها .

يحدث اثناء تحلل المادة العضوية ثلاث عمليات فى وقت واحد الاولى اختفاء الانسجة النباتية والحيوانية من المادة العضوية المضافة ، والثانية تكون انسجة جديدة من خلايا الميكروبات والثالثة هى تكون نواتج نهائية لعملية التحلل والتى تتحد مع نواتج التمثيل الغذائى للميكروبات ومع مركبات اخرى، وتكون الدبال الذى يعتبر فى تكون مستمر وتحلل مستمر فى الاراضى .

وبالرغم من الاختلافات الكبيرة فى تركيب المواد العضوية التى تدخل فى التفاعلات الحيوية فى الاراضى فأن هناك خطوات اساسية تتم عند تحللها ،فمن المعروف أن الميكروبات

تحصل على الطاقة نتيجة تفاعلات تتم داخل جسم الميكروب وان الميكروبات لاتستطيع امتصاص الجزئيات الكبيرة المعقدة فى المادة العضوية،لذلك فأن هذه الجزئيات الكبيرة المعقدة لابد ان تتحلل اولا الى جزئيات بسيطة حتى يمكنها دخول جسم الميكروب واستخدامها كمصدر للطاقة أو للبناء ، فالكربوهيدرات المعقدة تتحلل الى سكريات بسيطة ذائبة ومثلها البروتينات،وهذا التحلل يتم نتيجة لافراز الميكروبات المتخصصة فى تحليل هذه المواد لانزيمات خارجية Extracellular enzymes ،أى يفرزها الميكروب خارج خلاياه فى الوسط لتحليل المواد المعقدة وبعد أن يتم التحلل الى مركبات بسيطة ذائبة يمتصها الميكروب ويقوم بتحليلها واكسدتها للحصول على الطاقة او استخدامها فى البناء بواسطة انزيمات داخلية Intracellular enzymes تفرز داخل الخلية .

تكوين وتحلل الدبال : Formation and Decomposition of Humus

كما سبق أن ذكرنا أنه عند اضافة مادة عضوية الى الاراضى فأن عمليات التحلل تؤدى الى اختفاء المواد السريعة التحلل أولا ثم يبطؤ التحلل بعد ذلك وتختفى الانسجة النباتية فى المادة المضافة،ويتبقى فى نهاية التحلل مادة ذات تركيب معقد اكثر ثباتا فى تحللها ، لونها غامق وذات طبيعة غروية وهذه المادة هى الدبال .

والدبال ليس مادة محددة من الناحية الكيماوية ولكنه تركيب معقد من عديد من المواد يحتوى بداخله على نسبة ضئيلة من المواد القابلة للذوبان فى الماء مثل السكريات والاحماض الامينية لكن اغلبه عبارة عن مواد لاتذوب فى الماء ذات لون داكن،والمادة الدبالية يمكن تقسيمها الى ثلاثة اقسام :

أ) حمض الهيوميك Humic acid ويمكن استخلاصه بالمواد القلوية ولكنه يترسب من المستخلص بالاحماض .

ب) حمض الفولفيك Fulvic acid يمكن استخلاصه ايضا بالمواد القلوية ولكنه لايترسب من المستخلص بالاحماض وبذلك يمكن فصله عن الجزء الاول .

جـ) الهيومين Humin وهو الجزء من المواد الدبالية الذى لايستخلص بالقلوى .

وحمض الهيوميك مقاوم للتحلل ومن المحتمل أنه يتكون من اتحاد اللجنين والبروتين وبعض نواتج التمثيل الغذائى بالميكروبات والنباتات،ويتركب من نواه عطرية Aromatic core متحدة مع سلاسل جانبية . والنواة العطرية تتكون نتيجة عملية بلمرة Polymer-ization لوحدات من المركبات الفينولية وترتبط هذه النواة بالسلاسل الجانبية كما ترتبط باحماض امينية ، والمركبات العطرية الداخلة فى تركيب النواه العطرية تأتى من البقايا النباتية أو تكونها الميكروبات . ولقد اوضحت بعض الدراسات أن بعض مركبات ناتجة

من اللجنين تدخل في التركيب بدون تغير ، ومع ذلك فأن تركيبه الكيماوى غير واضح وتختلف محتوياته من أرض الى أخرى .

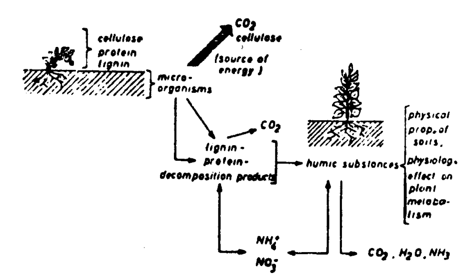
أما حمض الفولفيك فأن تركيبه يحتوى على كربوهيدرات وبروتين علاوة على مواد شبيهة بتلك الموجودة فى حمض الهيوميك،أما الهيومين فتركيبه غير متجانس ايضا حيث يحتوى على بقايا نباتية لم تصل للتحلل الكامل كما يحتوى داخله على حمض هيومك متحد مع طين غروى يمنع استخلاصه بالقلوى .

والمواد الدبالية عموما ذات طبيعة غروية وقدرة عالية على الارتباط وتبادل القواعد تفوق كثيرا قدرة معادن الطين الغروية .

وبصرف النظر عن كمية المادة العضوية التى تضاف الى التربة سنويا،فان الدراسات بينت أن نسبة الدبال فى التربة الواحدة ثابتة لحد كبير وهذا يعنى أن النقص السنوى الناتج من تحلل الدبال فى أى تربة يعادل معدل التكون السنوى الجديد منه . واذا اوقف اضافة مواد عضوية للتربة عن طريق منع نمو النباتات والتسميد لمدة طويلة ، فأن النقص فى نسبة الدبال فيها يحدث ببطء شديد مما يبين انه مقاوم للتحلل،وأن كان معدل التحلل الذى يحدث يتوقف على صفات التربة ومدى التهوية والظروف الجوية السائدة ، وعموما فأن الكمية التى تتحلل سنويا تقدر بـ ٢ - ٥ ٪ من كميته فى الارض ، وفى الاراضى تحت الظروف الطبيعية فان هذا النقص يعوض سنويا من بقايا النباتات والتسميد بحيث تبقى النسبة ثابتة تقريبا .

أما من ناحية اهمية الدبال فى التربة وبالتالى اهمية المادة العضوية عموما فأنه من المعروف أن المادة العضوية هى المخزن الذى تستمد منه الميكروبات غذاءها سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة ونتيجة للتحلل يحدث معدنة لما به من عناصر غذائية ضرورية للنبات . والمادة العضوية تلعب دورا اساسيا فى بناء الارض وتكوين التجمعات Aggregates وتحسن من التهوية فى الاراضى الثقيلة وتزيد من احتفاظ الاراضى الخفيفة بالماء . كما أن قدرتها العالية على مسك وتبادل القواعد يجعلها مصدرا هاما لكثير من العناصر المعدنية اللازمة للكائنات الحية كما تزيد من القدرة التنظيمية للاراضى buffering capacity .

وشكل رقم (٤ - ١) يوضح تكون الدبال والمادة العضوية بالتربة بواسطة الميكروبات من المخلفات النباتية .



Scheme of formation of soil organic matter

شكل رقم (٤-١) : يوضح تكون المادة العضوية بالتربة .
(From FAO Soils Bulletin No. 27, 1975).

تحلل المواد العضوية الكربونية المختلفة فى التربة :

Degradation of different carbon compounds

بعد اضافة المادة العضوية مباشرة فأن أول المركبات التى تدخل فى التفاعلات الحيوية فى التربة هى المواد الذائبة فى الماء ، حيث تستخدمها ميكروبات التربة بسرعة كبيرة ، وتتضمن المواد الكربونية الذائبة فى البقايا النباتية ، السكريات والاحماض العضوية أساسا،والميكروبات بطبيعة الحال تستهلكها للحصول على الطاقة وبناء الخلايا ونتيجة لاستهلاكها السريع فأن التربة فى الظروف الطبيعية نادرا ماتحتوى على كميات كبيرة من السكريات والاحماض العضوية السهلة الذوبان .

وهذه المركبات العضوية البسيطة مثلها مثل غيرها من مركبات الكربون تتحلل هوائيا الى $CO_2 + H_2O$ كناتج نهائى اما تحت الظروف غير الهوائية فأن عمليات الاكسدة لاتكون كاملة لذلك فأن السكريات تتحول الى احماض عضوية وكحولات والدهيدات وكيتونات ، وغازات مثل الميثان والهيدروجين و CO_2 وغيرها .

وبعد اختفاء المواد السهلة التحلل تقوم الميكروبات المختلفة بتحلل المواد الكربوهيدراتية المعقدة الموجودة فى البقايا النباتية،ويختلف معدل تحللها حسب مدى تعقيد المركب ونوع الروابط الكيماوية التى تربط الجزىء المعقد ومدى وجود الميكروبات المتخصصة فى التحلل . وكما سبق أن أوضحنا فأن التحلل يتم أولا بافراز انزيمات خارجية تحلل المواد الكربوهيدراتية المعقدة الى مكوناتها الاولية البسيطة ثم بعد ذلك تستخدمها

الميكروبات للبناء ومصدرا للطاقة وجزء منها يدخل في بناء مواد معقدة اخرى في التربة او يدخل في تركيب الدبال . والناتج النهائى للتحلل لمختلف انواع الكربوهيدرات هو $CO_2 + H_2O$ تحت الظروف الهوائية وأحماض عضوية وكحولات والدهيدات وكيتونات وغازات تحت الظروف اللاهوائية .

تحلل النشا : Starch hydrolysis

النشا من الناحية الكيماوية عبارة عن مركب معقد من الجلوكوز Polymer of glucose وهو مركب من جزئين هما الاميلوز والاميلوبكتين Amylose & amylopectin ، والاميلوز مكون من سلاسل مستقيمة من الجلوكوز تتحد مع بعضها برابطة جليكوزيدية من النوع a-1,4 glycosidic linkage ، اما الاميلوبكتين فانه يحتوى علاوة على السلاسل المستقيمة المشابهة للاميلوز على سلاسل متفرعة والرابطة عند التفرع تكون من النوع a-1,6 glycosidic linkage . وجزىء النشا كبير

السلسلة المستقيمة فى تركيب الاميلوز .

السلسلة المتفرعة فى تركيب الاميلوبكتين .

جدا فمثلا عدد وحدات الجلوكوز فى جزىء الاميلوز تصل الى ٢٠٠-٣٠٠ وحدة بينما اعداد وحدات الجلوكوز فى الاميلوبكتين اكثر من ذلك . لذلك فأن الميكروبات لابد ان تفرز عدة انزيمات خارجية حتى تحلله الى سكريات بسيطة تستطيع امتصاصها،ثم بعد ذلك يتم اكسدة هذه السكريات داخل الميكروب للحصول على الطاقة وتستخدم جزء منه فى عمليات البناء . والناتج النهائى للتحلل مثله مثل كل المواد الكربوهيدراتية هو $CO_2 + H_2O$ تحت الظروف الهوائية . أما تحت الظروف اللاهوائية فأن عملية الاكسدة تكون غير كاملة بحيث

تتحلل الى احماض عضوية مثل : Acetic, butyric,formic,lactic,succinic citric وغيرها ، وكحولات وغازات مثل CO_2 ، H_2 ، الميثان CH_4 وغيرها .

وعملية تحلل النشا فى المادة العضوية عملية هامة حيث أن النشا واسع الانتشار فى البقايا النباتية وعادة مايوجد فيها بنسبة كبيرة لذلك فانه يعتبر مصدرا جيدا للطاقة بالنسبة للميكروبات المختلفة سواء تلك القادرة على تحليله او غير القادرة ، والاخيرة تستفيد منه بطريقة غير مباشرة حيث تستفيد من السكريات التى تتكون نتيجة تحليل جزئ النشا المعقد بواسطة الميكروبات القادرة على تحليله .

ويعتبر النشا من اسرع المواد الكربوهيدراتية تحللا ، فهو يلى السكريات البسيطة فى سرعة التحلل ، لذلك فأنه يختفى من المادة العضوية بعد فترة قليلة من اضافتها الى التربة . وتعتبر اعداد الميكروبات المحللة للنشا اكثر كثيرا من تلك القادرة على تحليل غيره من المركبات الكربوهيدراتية المعقدة الاخرى . والاحياء القادرة على تحليل النشا Amylo-lytic organisms تتضمن البكتريا والفطريات والاكتينومايسيتات وكما ذكرنا فأن نسبة كبيرة من ميكروبات التربة قادرة على تحليل النشا ، ولقد قدر أن ٥٠ - ٨٠ ٪ من مستعمرات البكتريا والاكتينومايسيتات النامية على اطباق عد الميكروبات قادرة على تحليل النشا . وفى العادة يمكن تمييز الميكروبات المحللة للنشا بسهولة وذلك بتلقيحها فى أطباق آجار مغذى Nutrient agar مضافا اليه النشا وبعد نمو المستعمرات تغمر بمحلول يود فيتلون النشا فى الآجار باللون الازرق ، ويلاحظ أن المستعمرات المحللة للنشا تكون محاطة بهالة رائقة خالية من اللون الازرق نتيجة لتحلل النشا . وقد ثبت أن التربة الخصبة تحتوى فى المتوسط على 10^6 - 10^7 ميكروب / جم قادر على تحليل النشا .

والميكروبات المحللة للنشا تفرز نوعين من الانزيمات هما الفا اميليز a-amylase وهذا الانزيم قادر على تكسير الروابط فى السلاسل المستقيمة لكل من الاميلوز والاميلوبكتين عشوائيا ولكنه غير قادر على تكسير الروابط المتفرعة وبذلك فأن ناتج تحلل النشا بواسطة هذا الانزيم عبارة عن سلاسل من وحدات جلوكوز مختلفة فى العدد (دكسترين dextrin) وقليل من السكريات المختزلة (reducing sugars) . أما انزيم الـ B-amylase فانه ينشط التحلل من نهاية الجزئ تدريجيا ويكون التكسير عند الرابطة الثانية بين وحدات الجلوكوز فى الجزئ ليعطى وحدات من السكر الثنائى مالتوز Maltose علاوة على نسبة من الدكسترين . وكلا الانزيمين غير قادر على تكسير الرابطة a-1,6 glycosidic linkage فى جزئ الاميلوبكتين وبذلك فأن كميات الدكسترين التى تتكون تتحلل بواسطة انزيمات اخرى ، اما المالتوز المتكون فأنه يتحلل بواسطة انزيم (maltase or glycosidase) الى جلوكوز وبالاضافة الى هذه الانزيمات فان بعض الميكروبات المحللة

للنشا تفرز انزيم gamma amylase ويسمى Glucoamylase وهذا الانزيم يفصـل وحدات الجلوكوز من نهاية جزئ النشا .

$$\text{Starch} \xrightarrow{\text{a- amylase}} \text{dextrin} \xrightarrow{\text{B-amylase}} \text{maltose}$$

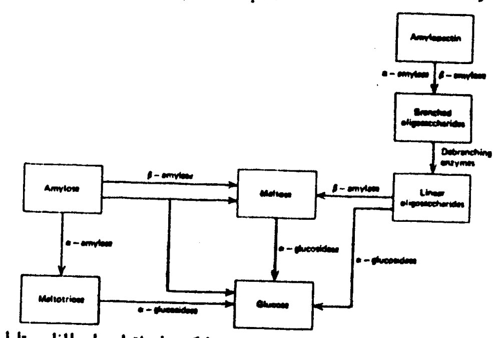
$$\text{Maltose} \xrightarrow{\text{a-1,4 glucosidase}} \text{glucose}$$

الجلوكوز الناتج من التحلل البيولوجي اما أن يتحلل هوائيا الى $CO_2 + H_2O$ او لا هوائيا الى احماض عضوية وكحولات وغازات كما سبق ذكره .

والبكتريا المحللة للنشا قد تكون هوائية أو لا هوائية ومنها المتجرثم وغير المتجرثـــم والموجب والسالب لجرام ومن امثلتها Bacillus , Clostridium , Chromoba-cterium, Flavobacterium, Micrococcus, Cytophaga, Nocardia

ومن الاكتينوميسيتات المحللة للنشا Micromonospora, Streptomyces

ومن الفطريات Aspergillus, Fusarium, Rhizopus



شكل رقم (٤-٢) : تحولات النشا الى جلوكوز بواسطة انزيمات الفا وبيتا اميليز .
(From Alexander, 1982).

السليولوز : Cellulose .

سبق أن اوضحنا ان السليولوز يمثل من ١٥ - ٦٠٪ من تركيب البقايا النباتية وعـادة ماتكون نسبته اعلى فى أواخر عمر النبات عن الاعمار المبكرة ، لذلك فأن السليولوز يمثل احـد المركبات الهامة التى تستخدمها الميكروبات كمصدر للكربون والطاقة فى البقايا النباتية، وهـو يلى السكريات البسيطة والنشا فى سرعة التحلل والسليولوز من الناحية الكيماوية عبارة عـن مادة كربوهيدراتية معقدة تتركب من وحدات من الجلوكوز Polymer of glucose

وترتبط وحدات الجلوكوز مع بعضها بروابط من النوع B-1,4 glycosidic linkage (B-1,4 glucan) كما هو موضح في الشكل التالي :

جلوكوز

وعدد وحدات الحلوكوز فى السلسلة المكونة لجزئ السليولوز تختلف من نبات الى آخر وعموما فان وحدات الحلوكوز فى الحزئ الواحد تتراوح بين ١٤٠٠ - ١٠,٠٠٠ وحدة لذلك فأن الوزن الجزيئى للسليولوز كبير جدا حيث يتراوح بين ٢٠٠,٠٠٠ - ٢,٤ مليون،والسليولـــوز يدخل فى تركيب الجدار الخلوى للنباتات الراقية والطحالب وكثير من الفطريات وبعض انــواع البكتريا مثل الـ Acetobacter والسليولوز الداخل فى تركيب جدار الخلايا لا يوجد على شكل سلاسل بسيطة وانما توجد هذه السلاسل متحدة فى وحدات دقيقة جدا تسمـــــــى micelles ومجموعة الـ micelles تترتب بشكل خاص فى تركيب اكبر يسمى micro-fibril وهذه الوحدات تترسب فى الجدار الخلوى ويوجد بينها عادة مادة اللجنين مـــع السكريات المعقدة الاخرى بنسب اقل .

ونظرا لان التركيب الكيماوى للسليولوز مكون من وحدات ذات رابطة من النوع B ،فأن عملية التحلل تتم عادة بواسطة ميكروبات متخصصة قادرة على كسر الروابط التى تربط السلسلة من هذا النوع،ولقد لوحظ ان الميكروبات القادرة على كسر الروابط من النوع الفا ١ - ٤ مثــل الموجودة فى النشا اكثر عددا واكثر تنوعا من الميكروبات القادرة على كسر الروابط من النــوع بيتا ١ - ٤ مثل الموجودة فى السليولوز . وعملية تحلل السليولوز فى الاراضى تتم بواسطـــة انزيمات خارجية مكونة من مجموعة معقدة من الانزيمات يطلق عليها كمجموعة الاسم Cellul-ases ، وهذه المجموعة الانزيمية قادرة على التحليل المائى للروابط بين وحدات الجلوكـــوز الى جزئيات اصغر فاصغر حتى الوصول الى السكر الثنائى Cellobiose ثم الى الجلوكوز الذى يستخدمه الميكروبات كمصدر للكربون والطاقة حيث يتحلل هوائيا الى CO_2 + H_2O.
ولقد اظهرت الدراسات ان النظام الانزيمى Cellulase complex الذى يحلـــل السليولوز الى سكريات يمكنها دخول جسم الميكروب يتكون من ثلاثة انواع من الانزيمات هـــى C_1, C_x, B-glucosidase ، والتحلل الكامل للسليولوز يتطلب وجود هذه الانزيمات الثلاثة مجتمعة . والانزيم الاول C_1 (Endo B-1,4 glucanase) يعمل

على المركب الاساسى وهو السليولوز حيث يحدث له تحلل جزئى . أما انزيم C_x (Exo B-1,4 glucanase) ، فهو غير قادر على تحليل جزئ السليولوز ولكنه يعمل على الجزئ الذى حدث له تحليل جزئى بواسطة الانزيم الاول . ويقوم الانزيم بتكسير الروابط فى السلسلة الطويلة نوعا ، وينتج عن عملية التكسير مواد قابلة للذوبان فى الماء تحتوى اساسا على السكر الثنائى Cellobiose علاوة على بعض المركبات التى تحتوى على سلاسل قصيرة من وحدات الجلوكوز ثم بعد ذلك يعمل الانزيم الثالث وهو B-1,4 glycosidase على هذه السكريات الثنائية والعديدة لتحويلها الى السكر الاحادى الجلوكوز . ويمكن تمثيل خطوات التحلل كالاتى

$$\text{Cellulose} \xrightarrow{C_1 \text{ (Endo B-1,4 glucanase)}} \text{smaller chains of}$$

$$\text{Cello-oligo-saccharides} \xrightarrow[C_x]{C_x \text{ (Exo B-1,4 glucanase)}} \text{Oligo saccharides + cellobiose}$$

$$\text{Cellobiose} \xrightarrow{\text{B-1,4 glucosidase (cellobiase)}} \text{glucose}$$

بعض الميكروبات مثل فطر *Polyporus versicolor* لها القدرة على تحليل السليولوز المرتبط باللجنين Ligno cellulose ، وهى تفرز - بالاضافة الى الانزيمات السابقة - انزيم x (Unnamed enzyme) وهو انزيم خارجى يفصل اللجنين عن السليولوز .

Extracellular reactions | Intracellular reactions

Natural celluloses | Modified celluloses

Wood and other lignocellulosic materials — "x" → Linear anhydroglucose chains

Native cellulose as in cotton — C_1 → Linear anhydroglucose chains

Wood pulp

Linear anhydroglucose chains — Cx (Cx_A, Cx_B, Cx_C, etc.) → Cellobiose — β-glucosidase → Glucose

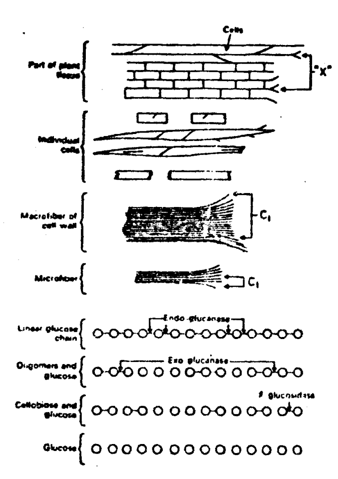
Regenerated or substituted cellulose derivatives

شكل رقم (٤ - ٣) : الانزيمات المحللة للسليلوز .
(From Subba Rao, 1982).

ويلاحظ انه اثناء تحلل المواد السليولوزية بواسطة الميكروبات الهوائية فانه نادرا ما تتراكم مركبات ثانوية أو وسطية اثناء التحلل ولكن الجزئ الذى يتحلل يتحول كليا الى CO_2 ، H_2O . والسبب الاساسى فى عدم تراكم مكونات ثانوية اثناء التحلل هو أن سرعة تحلل السليولوز الى سكريات بسيطة ابطأ من سرعة استهلاك السكريات البسيطة بواسطة الميكروبات.

مجموعة الانزيمات المحللة للسليولوز (X, C_1, C_x) توجد فى الميكروبات المحللة وذلك فى جسيمات تسمى Cellulosome توجد قرب سطح الخلية الميكروبية . هذه الجسيمات تقوم بربط جزئ السليولوز بسطح الخلية ثم افراز الانزيمات المحللة للسليولوز. الواحدة من هذه الجسيمات ذات وزن جزيئى حوالى ٢ر١ مليون .

اما أنزيم B-glucosidase فهو انزيم داخلى يحلل السللوبيوز الى جلوكوز. والشكل التخطيطى التالى (٤-٤) يوضح تحلل السليولوز فى المخلفات النباتية .



Diagrammatic representation of breakdown of cellulose in lignocellulosic materials (based on recent findings). Top to bottom:
—Part of plant tissue showing different types of cells and the action of an unnamed enzyme "X" on middle lamella
Individual cells released by the action of "X". Some of the cells show broken ends while others show some cracks in their cell walls.
—C_1 acts on cellulose of cell wall and releases macrofibres (macrofibrils) and it continues to work on them to release microfibres (microfibrils). During this process single linear anhydrous glucose chains are also released.
—C_1 releases single linear anhydrous glucose chains from microfibre (microfibril).
—Endo-glucanase acts on the linear anhydrous glucose chain at random to release oligomers. During this reaction some single glucose units may also be released.
—Exo-glucanase acts on non-reducing ends of long linear anhydrous glucose chains and also on oligomers to release cellobiose and glucose units. The exo-glucanase which releases cellobiose from non-reducing ends is called cellobiohydrolase.
—β-glucosidase acts on cellobiose to yield glucose.
—All the reactions given above occur simultaneously and also synergistically on cellulose to release glucose units.
A cellulase-system containing hemicellulases will also hydrolyze the hemicelluloses to release various sugars—xylose, mannose, galactose, arabinose, etc.

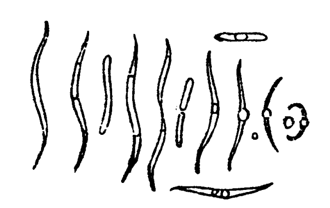
شكل رقم (٤-٤) : تحلل السليولوز فى المخلفات النباتية .
(From Subba Rao, 1982).

أما بالنسبة للتحلل اللاهوائى للسليولوز فمن المعروف أن الميكروبات اللاهوائية لاتستطيع الاكسدة الكاملة للمركبات العضوية عادة لذلك فان الناتج النهائى للتحلل يشمل عديد من المركبات غير كاملة الاكسدة ، حيث تتراكم كميات كبيرة من الاحماض العضوية مثل acetic, butyric, formic, lactic, succinic وغيرها . كما يتراكم عديد من الكحولات والغازات مثل CO_2 ، H_2 ، CH_4 ، والميثان الذى يتكون اثناء التحليل اللاهوائى للسليولوز لا ينتج كنتيجة مباشرة للتحلل ولكنه يتكون خلال تحلل الاحماض العضوية المتكونة الى ميثان فى عملية التخمر الميثانى بواسطة ميكروبات اخرى خلاف المحللة للسليولوز حيث اتضح من الدراسات أن المزارع النقية من الميكروبات اللاهوائية المحللة للسليولوز لا يتكون فيها الميثان ابدا .

وتلعب البكتريا اللاهوائية المحللة للسليولوز دورا هاما فى قاع البرك والمستنقعات وفى كرش الحيوانات المجترة وفى انتاج المركبات الوسطية اللازمة لانتاج غاز البيوجاز .

وقد اوضحت الدراسات أن هناك عوامل كثيرة تؤثر فى معدل تحلل السليولوز . فقد لوحظ مثلا أن السليولوز النقى يصعب على كثير من الميكروبات تحليله وأن وجود بعض الشوائب يسرع من عملية التحلل وبالتالى فأن معدل تحلل السليولوز الموجود فى البقايا النباتية يكون سريعا جدا فى التربة أو الاوساط الغذائية مقارنة بتحلل السليولوز النقى . كما تلعب درجة الرطوبة فى الاراضى دورا هاما فى سرعة تحلل السليولوز فى التربة،كما لوحظ أن اضافة مصدر نيتروجينى للبقايا الفقيرة فى النيتروجين يسرع كثيرا من معدل تحلل السليولوز ومن ناحية درجة الحرارة فأن الميكروبات المحللة للسليولوز متنوعة فى احتياجاتها الحرارية لذلك فأن تحلل السليولوز فى التربة يتم فى درجات حرارة تتراوح بين ٥ - ٦٥°م ، ولكن نظرا لاختلاف درجة الحرارة المثلى للانواع المختلفة من الميكروبات المحللة للسليولوز فأن التغير فى درجة الحرارة يحدد نوع الميكروبات السائدة فى التحلل،فتسود الميكروبات الميزوفيلية Mesophilic عند درجات الحرارة المتوسطة ، والثرموفيلية Thermophilic تسود عند درجات الحرارة المرتفعة .

ونظرا لان الميكروبات المحللة للسليولوز تتضمن مجموعات هوائية ولا هوائية فأن التحلل يتم سواء فى وجود الهواء أو عدمه ولكن حالة التهوية تحدد الانواع السائدة فى التحلل فتسود الانواع الهوائية عند توفر الاكسوجين والانواع اللاهوائية عند غيابه . ولكن على العموم فأن التحلل يكون انشط كثيرا فى الظروف الهوائية عن الظروف اللاهوائية . كما أن لدرجة pH التربة اثر واضح على نوعية الاحياء التى تقوم بتحليل السليولوز ومعدل التحلل. ففى الظروف المتعادلة أو المائلة الى القلوية تسود البكتريا والاكتينومايسيتات أما فى الظروف الحامضية فأن الفطريات هى التى تسود .



شكل رقم (٤-٥) : تطور ميكروب Cytophaga في الشكل الظاهري اثناء نموه .
(From Alexander, 1977).

أما من ناحية الميكروبات التي تقوم بتحليل السليولوز فهي تتضمن أربعة مجموعات رئيسية كما يلي :

١) بكتريا هوائية وتشمل الاجناس التالية Cytophaga, Bacillus, Pseudomonas, Vibrio ويعتبر جنس الـ Cytophaga من انشط البكتريا الهوائية في تحليل السليولوز . والسيتوفاجا Cytophaga يعتبر جنسا من البكتريا غير الحقيقية أو البكتريا الراقية تتبع رتبة Cytophagales وجدارها الخلوى مرن (بعكس البكتريا الحقيقية فأن جدارها الخلوى صلب) والميكروبات عصوية طويلة رفيعة مدببة الطرفين تتحرك حركة دودية في الاوساط الصلبة والحركة تتم بدون اسواط Flagella، والـ Cytophaga لاتنمو على الاوساط الغذائية الاعتيادية ولكنها تنمو على اوساط خاصة تحتوى على السليولوز (اوراق الترشيح) كمصدر للكربون وعناصر معدنية أخرى والخلايا دائما تتحرك في مجموعات على الاوساط الصلبة . وعند نموها على أوراق الترشيح في الوسط الغذائي تظهر مناطق تآكل فيها ومجاميع لونها اصفر نتيجة لنمو الـ Cytophaga .

البكتريا المحبة لدرجة الحرارة المرتفعة Thermophiles :

من حيث البكتريا المحبة لدرجات الحرارة العالية (الثرموفيلية) فقد وجدت في الاراضي وفي الاسمدة العضوية ، وهي تسود الانواع الاخرى من البكتريا المحللة للسليولوز عند درجات الحرارة المرتفعة ، اذ أن حرارتها المثلى من ٥٥ - ٦٥ °م وهذه

البكتريا منها الهوائى واللاهوائى وتحت ظروف الحرارة المرتفعة فأن تحلل السليولوز يكون أسرع .

٢) بكتريا لا هوائية ومنها ميكروب *Clostridium dissolvens* وهو ميزوفيلى وميكروب *Clostridium thermocellum* وهو ثرموفيلى .

٣) الاكتينومايسيتات Actinomycetes :تستطيع أنواع بعض الاجناس التالية Streptomyces, Nocardia, Micromonspora تحليل السليولوز هوائيا .

٤) الفطريات تلعب دورا رئيسيا فى تحليل السليولوز هوائيا خصوصا فى التربة الحامضية ومن الاجناس الهامة المحللة للسليولوز Alternaria, Penicillium . Chaetomium, Trichoderma, Aspergillus, Fusarium

المجترات : Ruminants

يتم تحلل السليولوز لا هوائى فى معدة الحيوانات المجترة Ruminants بواسطة البكتريا اللاهوائية المحللة للسليولوز ، والنواتج النهائية للتحلل هى املاح الخلات ، البروبيونات ، البيوتيرات ، السكسينات وغازات (حوالى ٥٠ - ٧٠٪ ك $أ_٢$ ، والباقى أغلبه ك يد $_٤$) . ومن أهم انواع البكتريا اللاهوائية التى تلعب هذا الدور :

١) كرويات : *Ruminococcus flavofaciens, R. albus*

٢) عصويات : *Bacteroides succinogenes, B. ruminicola*

٣) واويات (متحركة ، فلا جيللام واحد) *Butyrivibrio fabrisolvens*

وذلك بالاضافة الى اعداد قليلة تتبع : *Clostridium, Cillobacterium* . *cellulosolvens*

الهيميسليولوز : Hemicellulose

كما سبق أن ذكرنا فأن الهيميسليولوز يوجد بنسبة كبيرة فى البقايا النباتية تصل الى ١٠ - ٣٠٪ من تركيبها،لذلك فهو يعتبر من الكربوهيدرات المعقدة الهامة فى المادة العضوية المضافة الى التربة،وهو يكون جزءا من جدر الخلايا المغلظة المسنة فى انسجة النباتات المختلفة . ويجب أن يلاحظ أن تسمية الهيميسليولوز لا يجب أن تعطى انطباعا بانها مواد شبيهة بالسليولوز ولكن هذه التسمية قديمة تعود الى وجود الهيميسليولوز مجاورا للسليولوز فى كثير من جدر خلايا النباتات الراقية ولا علاقة لتركيبه بتركيب السليولوز .

الهيميسليولوز عبارة عن مواد كربوهيدراتية معقدة غير قابلة للذوبان فى الماء ويمكن استخلاصها من البقايا النباتية بواسطة قلوى مخفف . وبعد استخلاصها وتحللها مائيا

بواسطة حمض مخفف لوحظ انها تعطى سكريات سداسية Hexoses وسكريات خماسية Pentoses واحماض يورونية Uronic acids ،ونواتج التحليل المائى للهيميسليولوزات المختلفة اوضحت أنها مواد غير متجانسة وغير محددة كيماويا،ولقد اقترح استبدال اسم الهيميسليولوز بالـ Pentosans ، Hexosans ثم تسمى Galactans, Mannans, Xylans وغيرها حسب نوع السكر الغالب فيها .

وعموما فأن الهيميسليولوز عبارة عن سلاسل معقدة يدخل فيها السكريات مع الاحماض اليورونية Uronic acids أو بدونها ، لذلك فانها قد تميز تبعا لاحتوائها على احماض اليورونيك مثل Glucuronic & Galacturonic أو عدم احتوائها الى نوعين همـا Polyuronides وهى التى تتكون من وحدات متكررة من السكريات والاحماض اليورونية أو Cellulosans وهى التى تحتوى على وحدات من السكريات فقط،ومن اكثر السكريات السداسية وجودا فى تركيب الهيميسليولوز الجلوكوز والجلاكتوز والمانوز Glucosa, Galactose, mannose ومن السكريات الخماسية arabinose, xylose ، ولقد لوحظ مثلا أن Xylans وهى التى تدخل فى تركيبها السكر الخماسى الزيلوز Xylose تتركب من سلاسل من وحدات الزيلوز مرتبطة بروابط من النوع B-1,4 مع وجود سلاسل جانبية من حمض الجلوكورونيك Glucuronic acid (وهو حمض يورونيك ناتج من اكسدة الجلوكوز) وقد تحتوى السلاسل الجانبية على سكر Arabinose .

والهيميسليولوزات من الصعب تنقيتها حيث توجد بعد عزلها مختلطة مع مواد كيماوية اخرى ومحاولات تنقيتها عادة تؤدى الى حدوث تغيير فى تركيبها .

ويتم تحلل الهيميسليولوزات فى التربة بواسطة مجموعة من الانزيمات الخارجية التى تفرزها الميكروبات فى الوسط لتحللها الى مركبات بسيطة يسهل على الميكروبات امتصاصها وطبيعيا يختلف المعقد الانزيمى القائم بالتحلل حسب نوع الهيميسليولوز فمثلا الهيميسليولوز من النوع Xylans يتحلل بواسطة معقد انزيمى يطلق عليه اسم Xylanase وكل مجموعة من هذه الانزيمات يفرزها مجموعات او سلالات معينة من الميكروبات . وشكل رقم (٤-٦) يوضح التركيب الكيماوى لبعض الوحدات الاساسية الداخلة فى تركيب بعض الهيميسليولوزات .

ولقد انعكس التركيب المعقد غير المحدد للهيميسليولوزات وصعوبة فصلها بحالة نقية على الدراسات التى تجرى على الميكروبات المحللة واعدادها فى التربة . فبينما نجد أن الدراسات على تحلل النشا والسليولوز كثيرة ومتنوعة نجد أن الدراسات على الهيميسليولوزات محددة كما يلاحظ ان بعض الميكروبات تكون بعض الهيميسليولوزات مما يعقد الدراسة فى التربة .

Structure of sugar constituents of hemicellulose

شكل رقم (٤-٦) : تركيب مكونات الهيميسليلوزات .

وعموما فقد اظهرت الدراسات انه عند اضافة البقايا النباتية للتربة فأن معدل تحلل الهيميسليولوز يكون فى اول الامر سريعا ثم يبطىء بعد فترة . والاختلاف فى معدل تحلل هذه المركبات يرجع الى تركيبها الكيماوى حيث انها تحتوى على مواد غير متجانسة بعضها سريعة التحلل وبعضها بطيئة التحلل . كما أن انتاج وتمثيل بعض الميكروبات للهيميسليولوزات يؤدى الى أن هذه المركبات لاتختفى من التربة دائما ويصبح من الصعب تمييز مصدرها هل هى من المادة العضوية المضافة أم هى متكونة نتيجة النشاط الميكروبى . ونظرا للسرعة الكبيرة التى تتحلل بها بعض المواد الهيميسليولوزية اثناء المراحل الاولى للتحلل فان معدل تحللها يكون اسرع من السليولوز فى البداية ثم يبطىء بعد ذلك .

وعلاوة على تأثير التركيب الكيماوى للهيميسليولوزات وانواع السكريات الموجودة فيها على معدل التحلل ، فأن ظروف الوسط أو ظروف التربة تتحكم لحد كبير فى معدل التحلل، مثل الرقم الهيدروجينى pH ، درجة الحرارة، المحتوى الرطوبى والتهوية وتوفر العناصر الغذائية وخصوصا النتروجين علاوة على عمر النبات المأخوذ منه البقايا المضافة للتربة، فقد لوحظ ان الهيميسليولوز المأخوذ من النباتات المسنة يكون أبطأ فى التحلل عن المأخوذ من النباتات الصغيرة .

أما من ناحية الميكروبات القائمة بالتحلل فيجب أن نشير أولا الى ان الهيميسليولوزات تختلف كثيرا في تركيبها الكيماوى وهذا يؤدى بالتالى الى أن الانواع الميكروبية التى تحللها تختلف من نوع هيميسليولوز الى آخر . وعموما فأن اعداد وانواع الميكروبات القادرة على تحليل مختلف انواع الهيميسليولوزات كثيرة فى التربة حيث تتضمن البكتريا الهوائية واللاهوائية والاكتينومايسيتات والفطريات حتى أن اعداد الميكروبات المحللة للهيميسليولوزات في التربة أكثر من المحللة للسليولوز ، الا انه من الصعب تحديد اعدادها وانواعها بدقة حيث تتوقف نتائج التقدير على نوع الهيميسليولوز المستخدم فى الدراسة .

ويلاحظ أن الميكروبات المحللة للهيميسليولوزات ليست متخصصة لتحليلها فقط ولكنها قادرة ايضا على تحليل عديد من السكريات البسيطة والمعقدة . ومن أنشط اجناس البكتريا فى تحليل الهيميسليولوز اجناس Bacillus, Pseudomonas, Cytophaga, Vibrio, Achromobacter كما أن كثيرا من انواع الـ Actinomycetes قادرة على تحليل الهيميسليولوز، اما من ناحية اجناس الفطريات المحللة فمنها :

Alternaria, Fusarium, Aspergillus, Penicillium, Helminthosporium, Rhizopus, etc..

ولكى يتحلل الهيميسليولوز ميكروبيا فان ذلك يتطلب مجموعة كبيرة من الانزيمات بسبب تعقد تركيبه الكيماوى، ويبدأ التحلل بتكسير مركب الهيميسليولوز الى وحدات اصغر وهذه تتحلل الى سكريات ثنائية وحمض يوررونيك ثم بواسطة انزيمات Glucosidases تنتج فى النهاية السكريات البسيطة وحمض اليوررونيك .

من نواتج تحلل الهيميسليولوز :

Hemicellulose ⟶ 1) Hexoses : glucose, fructose, mannose, galactose.
2) Pentoses: xylose, arabinose.
3) Uronic acids.

الصموغ والسكريات العديدة المشابهة Gums and Related sugars:

يفرز القلف والاوراق والجذور لعديد من النباتات مواد صمغية تتميز بقابليتها للامتصاص والانتفاخ، وهى تشبه فى تركيبها الكيماوى الهيميسليولوزات الا انها عند تحللها مائيا بواسطة حمض مخفف فانها تعطى سكريات بسيطة ويتبقى جزء مقاوم للتحلل .

ومن اكثر الصموغ التى درست الصمغ العربى Arabic gum (من شجر السنط Acacia) وصمغ المسكوايت Mesquite gum (من نبات المسكويت Prosopis)

الاول يدخل فى تركيبه السكريات Arabinose, Rhamnose, Galactose علاوة على حمض يورونيك وهو حمض Glucuronic acid . أما الثانى فيدخل فى تركيبه arabinose, galactose, methyluronic acid .

وبالرغم من أن الصموغ التى من أصل نباتى لاتصل الى التربة بكميات كبيرة الا أن لها أهمية خاصة فى التربة،نظرا لان كثير من الميكروبات تكون الصموغ والمواد المشابهة اثناء نموها،وهذا يؤدى الى وجودها فى التربة بكميات محسوسة نتيجة للنشاط البيولوجى وليس نتيجة لوصولها الى التربة مع البقايا النباتية .

ولكن يجب أن نلاحظ أن هناك اختلافات فى التركيب الكيماوى بين الصموغ الميكروبية والصموغ النباتية ، فالصموغ الميكروبية ذات تركيب مخاطى لزج ويتركب كيماويا من سكريات عديدة Polysacchardies ، فمثلا جنس الـ Rhizobium المسبب للعقد الجذرية فى النباتات البقولية يكون مادة لزجة صمغية مكونة من سكر عديد يحتوى على Glucuronic acid, pentose, glucose بينما تكون بعض أنواع جنس Bacillus مواد صمغية من عديد من وحدات الـ glucose أو fructose،وهناك أنواع اخرى من البكتيريا تتكون مادتها الصمغية من وحدات عديدة من الـ Arabinose,galactose كما يلاحظ أن بعض الصموغ الميكروبية يدخل فيها احماض امينية علاوة على المواد السكرية .

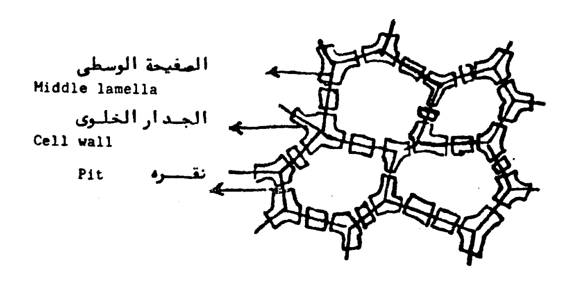
وتستطيع أنواع عديدة من ميكروبات التربة والتى تتضمنها الاجناس التالية Bacillus, Pseudomonas, Cytophaga وكذلك بعض الفطريات البازيدية Basidiomycetes تحليل الصموغ سواء ذات الاصل النباتى أو الميكروبى .

المواد البكتينية : Pectic substances

تعتبر المواد البكتينية موادا لاحمة تربط الخلايا النباتية ببعضها حيث انها تكون الصفيحة الوسطى بين جدر الخلايا Middle lamella (شكل رقم ٤-٧) ، لذلك فأن تحللها واستخدامها كمصدر للكربون والطاقة للميكروبات يساعد على تفكك الخلايا النباتية عن بعضها مما يسهل تحللها .

وعلى ذلك فأن تحلل البكتين هام فى تحلل البقايا العضوية المضافة للتربة . كما أن تحلل المواد البكتينية له أهمية كبيرة فى صناعة تعطين Retting نباتات الالياف مثل التيل والكتان والجوت وحطب القطن وسيقان الكركديه والملوخية ، حيث تعمل الانزيمات البكتيرية على تحليل المواد البكتينية المكونة للصفيحة الوسطى التى تربط انسجة الالياف فتتفكك وبذلك يسهل فصل الالياف السليولوزية عن باقى الانسجة النباتية ، حيث تستخدم هذه الالياف بعد ذلك فى صناعة النسج أو فى صناعة الحبال أو غيرها من الصناعات ، كما

أن القدرة على احداث الامراض للنبات Pathogenicity بواسطة بعض الميكروبات المرضية وايضا تحلل وتعفن كثير من الخضروات والفاكهة يرتبط لحد كبير بتحلل البكتين ، فمـــرض العفن الطرى مثلا Soft rot الذى يصيب كثيرا من النباتات الدرنية كالبطاطس والجـــزر ويصيب ايضا الخيار واللفت وغيرها والذى يسبب خسائر كبيرة فى الخضروات والفواكه المخزنـــة، يسببه بعض انواع البكتريا المفرزة للانزيمات المحللة للمواد البكتينية ومن اهمهـا ميكـــروب *Erwinia carotovora* حيث يؤدى نمو هذا الميكروب داخل درنات البطاطس الـــى تفكك الخلايا داخل الدرنة ثم تموت هذه الخلايا وتتحلل الدرنة ويخرج الميكروب ليغـــزو درنات جديدة ، وهكذا .



شكل رقم (٤-٧) : خلايا النبات وجدرها .

وهناك نظريات تربط ايضا بين قدرة الفطريات المسببة لامراض الذبول Wilting على افراز الانزيمات المحللة للمواد البكتينية وقدرتها على احداث امراض الذبول .

أما من ناحية التركيب الكيماوى للمواد البكتينية فأن هذه المواد تعتبر قسما مـــن أقسام الهيميسليولوزات . وتركيبها الكيماوى عبارة عن سلاسل من وحدات حمض الجلاكتورونيك Galacturonic acid مرتبطة مع بعضها فى سلاسل طويلة،ومجاميع الكربوكسيل فـــى حمض الجلاكتورونيك قد تكون مرتبطة كليا أو جزئيا بروابط استر مع مجاميع الميثيل methyl ester ، ومجاميع الكربوكسيل غير المرتبطة بروابط الاستر قد تكون متحدة كليا او جزئيا مع كاتيونات مختلفة مثل (كا ، مغ) ويمكن تمثيل حمض الجلاكتورونيك فى حمض البكتين بالشكل التالى :

(وحدات سلسلة حمض الجلاكتورونيك حيث يحتوى بعضها على روابط (methyl ester) .

والمركبات البكتينية تتكون من ثلاث مكونات اساسية وهى :

أ) البروتوبكتين Protopectin وهو الجزء غير القابل للذوبان فى الماء من المركبات البكتينية،وهو يتكون من وحدات من الجلاكتورونيك Polymer of galacturonic acid محتوية على مجاميع الاستر .

ب) البكتين Pectin ويشبه السابق فى تركيبه الكيماوى الا انه قابل للذوبان فى الماء ، ونسبة مجاميع الاستر به حوالى ٨ ٪ .

جـ) حمض البكتيك عبارة عن وحدات من حمض الجلاكتورونيك خالى من مجاميع الاستر Polymer of galacturonic acid وهو قابل للذوبان فى الماء،وحمض البكتيك يتميز بأنه يكون Pectic gel عند معاملته بالكالسيوم ويمكن انتاج حمض البكتيك من المواد البكتينية السابقة بمعاملتها بقلوى مخفف مما يؤدى الى تحلل مجاميع الاستر وانفراد مجاميع الكربوكسيل فى سلاسل حمض الجلاكتورونيك .

وتستطيع كثير من انواع واجناس البكتريا والاكتينومايسيتات والفطريات تحليل المواد البكتينية فى التربة واستخدامها كمصادر للكربون والطاقة ، لذلك فأن المواد البكتينية سريعة التحلل فى التربة ، وتصل اعداد هذه الميكروبات الى ١٠^{٥} - ١٠^{٦} /جم فى التربة،بينما تزيد اعدادها فى منطقة الجذور عن ذلك كثيرا فتصل الى ١٠^{٧} . وعادة يتم تحلل المواد البكتينية فى الظروف المتعادلة والمائلة الى القلوية بواسطة البكتريا والاكتينومايسيتات أما فى الظروف الحامضية فأن الفطريات هى النشطة فى التحليل . ومن اجناس البكتريا السائدة فى تحلل المواد البكتينية اجناس Bacillus, Erwinia, Clostridium, Pseudomonas, Micrococcus and Actinomycetes .

والانزيمات المحللة للمواد البكتينية والتى يطلق عليها كمجموعة اسم Pectinases يمكن تقسيمها الى مجموعتين هى :

المجموعة الاولى : Saponifying enzymes

والاسم التقسيمى لهذه المجموعة من الانزيمات هو Pectin-Pectyl hydrolases

والاسم الدارج لها :

Pectino-estrases, Pectin methyl estrase, Pectases

وهى تحلل روابط الاستر بين مجاميع الكربوكسيل والمثيل وينتج عن التحلل انفراد الميثانول وظهور مجاميع الكربوكسيل الحامضية فى الجزئ، ويتضح من هذا ان الاثر العام لهذه الانزيمات على جزئ البكتين محدود نظرا لانه ليس لها اثر على السلسلة الجليكوزيدية .

ويمكن تمثيل المعادلة العامة للتحلل بهذه الانزيمات كالآتى :

$$(RCOO\text{-}GH_3)_n \; n\,H_2O \longrightarrow (RCOOH)_n + n\,CH_3OH$$

المجموعة الثانية : Depolymerizing enzymes

وهى انزيمات تقسم جزئ البكتين الكبير الى وحدات أصغر وتقسم هذه المجموعة من الانزيمات حسب نوع تأثرها الى :

١) انزيمات محللة مائيا : Hydrolytic enzymes

وهى انزيمات تقوم بالتحليل المائى للروابط الجليكوزيدية وهذه المجموعة بالتالى يمكن تقسيمها الى قسمين :

أ - Polymethy galacturonase وهذه تهاجم جزئ البكتين اساسا (أى بمعدل أسرع من تحلبلها لحمض البكتيك) .

ب - Polygalacturonase وهذه تحلل حمض البكتيك أساسا (أى بمعدل اسرع من تحليللها للبكتين) .

وكلا الانزيمين يقومان بتكسير الروابط الجيليكوزيدية فى السلسلة الطويلة لتعطى حمض Galacturonic .

٢) انزيمات Trans-eliminative cleavage enzymes وهذه الانزمات تحدث تكسيرا للروابط الجلبكوزيدية فى الجزئ بطريقة الازالة الانتقالية ويكون ناتج التحلل مركب مشتق من حمض الجالاكتورونيك .

ومن هذا النوع من الانزيمات ، انزيم Pectin lyase الذى يحلل البكتين وانزيم Pectate lyase الذى يحلل حامض البكتيك .

$$\text{Protopectin} \xrightarrow{\text{PME}} \text{Pectin} \xrightarrow{\text{Poly Methyl g}} \text{Pectic}$$

$$\text{Pectic} \xrightarrow{\text{P g}} \text{galacturonic acid}$$

$$\text{Pectic} \xrightarrow{\text{lyase}} \text{products from galacturonic acid}$$

ويوضح الجدول التالى رقم (٤-١) هذه الانزيمات وبعض الميكروبات المنتجة لها .

جدول رقم (٤-١) : بعض الاجناس الميكروبية المنتجة لانزيمات تحلل البكتين .

الأنزيم	الفطر		البكتريا
Polygalacturonase[a]	*Aspergillus* *Fusarium* *Monilia*	*Penicillium* *Rhizoctonia* *Rhizopus*	*Bacillus* *Erwinia* *Pseudomonas* *Xanthomonas*
Pectate lyase[a]	*Fusarium* *Geotrichum* *Rhizoctonia*		*Arthrobacter* *Bacillus* *Clostridium* *Corynebacterium* *Flavobacterium* *Pseudomonas*
Polymethylgalacturonase[b]	*Aspergillus* *Botrytis*	*Fusarium* *Rhizoctonia*	
Pectin lyase[b]	*Aspergillus* *Fusarium*	*Penicillium* *Rhizoctonia*	*Arthrobacter* *Clostridium* *Corynebacterium* *Flavobacterium* *Micrococcus* *Xanthomonas*
Pectinesterase	*Alternaria* *Fusarium*		*Clostridium* *Pseudomonas* *Xanthomonas*

[a] Endo or exo enzyme.
[b] Only endo enzyme.
(Note: Lyases are sometimes called transeliminases. The words pectic acid, polygalacturonic acid, or polygacturonate are sometimes used in place of pectate.)
(From Alexander, 1982).

الانيوليـــن : Inulin

يوجد الانيولين فى مجموعة من النباتات (مثل الخرشوف والداليا) كمـــــادة كربوهيدراتية مخزنة بدلا من النشا،وهو يخزن فى الجذور والدرنات والسوق والاوراق . ومن حيث التركيب الكيماوى فأن الانيولين مادة سكرية معقدة تتركب من وحدات سكر الفركتـــوز (Fructosan) ويحتوى جزئ الانيولين على حوالى ٢٥ - ٢٨ جزئ فركتوز والرابطـة تكون مابين ذرة ٢ ، ١ ومـن النوع البيتا B-2-1 fructofructose units وفى بعض الانواع من الانيولـين توجد روابط بين ذرات ٢ - ٦ .

وعند ما يصل الانيوليـن الى التربة فأن كثيرا من الميكروبات تقوم بتحليله،منها البكتريا مثل Pseudomonas, Arthrobacter, Micrococcus, Clostridium and Cytophaga كما تقوم بعض الاكتينومايـسيتات والفطريات بتحليل الانيولين والميكروبـات المحللة للانيولين تفرز Inulinases ،وهى انزيمات خارجية تحلل الانيولين الى وحدات

شكل رقم (٤-٨) : وحدات من سكر الفركتوز فى جزئ الانيولين .

أصغر تتكون من جزئ الى ثلاثة جزئيات من الفركتوز وذلك حسب نوع الانزيم الذى يفـــرزه الميكروب ثم يستمر التحليل حتى تتكون فى النهاية السكريات البسيطة .

اللجـــنين : Legnin

يوجد اللجنين فى الجدار الخلوى لكثير من النباتات ونسبة اللجنين تختلف كثيرا من نبات الى آخر وتتوقف على عمر النبات وتتراوح هذه النسبة بين ٥ - ٣٠٪ من تركيب النبـات على اساس الوزن الجاف . كما تحتوى جدر خلايا بعض الفطريات على مواد شبيهة باللجنين مثل اجناس Humicola, Aspergillus, Gliocladium ، وعادة يوجـــــد اللجنين فى النباتات مرتبطا بالسليولوز مكونا مركبات معقدة من اللجنوسليولوز-Legnocellulose وتزداد نسبة اللجنين فى جدر الخلايا مع تقدمها فى العمر حيث تترسب فيهـــا باستمرار مع زيادة سمك الجدر . وفى العادة فأن عملية الحصول على اللجنين بحالة نقيـــة لاجراء الدراسات الميكروبيولوجية والكيماوية على تحلله صعب جدا وذلك لارتباطه بمواد اخرى فى الانسجة النباتية .

ومن الناحية الكيماوية فأن اللجنين لا يعتبر مادة متجانسة التركيب الكيماوى ولكن يمكن اعتباره مجموعة من المركبات تختلف فى تركيبها كثيرا من نبات لآخر . وعموما فأن مركبـــــات اللجنين غير قابلة للذوبان فى الماء الساخن وتقاوم التحلل بالاحماض المعدنية القوية . ولا يذوب فى المذيبات العضوية المتعادلة ولكنه يذوب فى القلويات،وقد اظهرت الدراســات الفزيائية انه يحتوى على نواة من مركبات عطرية اساسا من مشتقات Phenyl propanse وتحتوى المركبات الحلقية او العطرية على عدد كبير من مجاميع الميثوكسيل (CH_3O-) methoxyl .

ونسبة هذه المجاميع فى تركيب اللجنين يختلف من نبات الى آخر فهى تصل فـــى المتوسط الى ٢١ ٪ من اللجنين فى الاشجار متساقطة الاوراق ومن ١٥ - ١٦ ٪ فى النجيليات عموما ، ويمكن القول ان نسبتها لا تقل عن ١٤ ٪ من تركيب اللجنين ، والوحدة الاساسيـــة الداخلة فى بناء النواة العطرية للجنين يمكن توضيحها كما يلى :

R

HO— (حلقة بنزين) —CH2-CH_2-CH_3

R'

وهذه الوحدة الاساسية توجد فى ثلاث صور وهى :

الصورة الاولى وفيها R, R' عبارة عن H

والصورة الثانية فيها R عبارة عن H أما R' عبارة عن CH_3O

والصورة الثالثة فيها R, R' عبارة عن CH_3O

ونسب هذه الصور الثلاثة تختلف فى انواع النباتات المختلفة،مما يؤدى الى ان نسب مجاميع الميثوكسيل فى اللجنين تختلف من نبات الى آخر . وفى تركيب جزئ اللجنين فأن النواة العطرية تتكرر والارتباط بين الوحدات يكون اما -C-O-C-او -C-C- وهذا الارتباط قد يتم بين حلقتى بنزين متجاورتين او بين حلقة بنزين من وحدة وسلسلة البروبان فى الوحدة التالية او بين سلسلتى البروبان فى الوحدتين .

وتوضيح التركيب الكيماوى للجنين صعب وهذا ينعكس على دراسة طريقة التحلل الميكروبى له ونواتج التحلل . لذلك فأن مثل هذه الدراسات عادة مايستخدم فيها بعض المركبات الداخلة فى تركيب اللجنين حتى يمكن تتبع نواتج التحلل ووضع نظريات تحدد خطوات هذا التحلل . والمجموعة الانزيمية التى تنشط تحليل اللجنين يطلق عليها عادة اسم لجنيناز Legninase ولكن الدراسة عليها وهل هى انزيم واحد او مجموعة من الانزيمات فانها غير متكاملة للآن .

ولقد اوضحت الدراسات التى يستخدم فيها بعض المركبات الداخلة فى تركيب اللجنين مثل a-conidendrin ان بعض السلالات الميكروبية تستطيع استخدامه كمصدر وحيد للكربون مثل *Flavobacterium sp.* ، ولقد اتضح ان التحلل يعطى Vanillic acid الذى يتحول بالتالى الى Protocatechuic acid كما لوحظ ان كثيرا من فطريات التربة قادرة على اكسدة Vanillin, Vanillic acid, syringic acid, syringaldehyde, ferulic acid, p-hydroxybenzoic acid وهذه المركبات جميعها تدخل فى تركيب اللجنين وتؤدى الاكسدة لهذه المركبات فى العادة الى كسر حلقات البنزين التى تكون اساس التركيب . فجميع هذه المركبات تحتوى على حلقات بنزين ، وأغلبها يحتوى على مجموعات الميثوكسيل (CH_3 O-) أو الهيدروكسيل (OH-) أو الكربوكسيل (COOH-) أو الالدهيد (CHO-) .

Simple compounds of interest in lignin metabolism.

شكل رقم (٤-٩) : بعض المركبات الداخلة فى تمثيل اللجنين .
(From Alexander, 1977).

وعادة فأنه عند التحلل الميكروبي تختفي مجاميع الميثوكسيل والسلاسل الجانبية على النواة العطرية اولا قبل تكسير هذه النواة . وباختصار يمكن القول ان جزئ اللجنين يحدث له تحلل الى مركبات عطرية بسيطة اولا depolymerization بواسطة انزيمات خارجية تفرزها الميكروبات في الوسط ثم بعد ذلك تزال مجاميع الميثوكسيل من هذه الجزيئات وتبقى مشتقات البنزين التي بعد ذلك يحدث لها تكسر للحلقات العطرية،وان كان هناك بعض الآراء التي تشير الى ان ازالة مجاميع الميثوكسيل قد تتم قبل تحلل الجزئ الى مركبات العطرية .

يعتبر اللجنين من ابطأ المواد الكربونية في التحلل في الاراضي،لذلك فأن نسبته ترتفع باستمرار مع تقدم عملية تحلل المواد العضوية المضافة للتربة وذلك نتيجة للسرعة التي يتم بها تحلل المواد الكربونية الاخرى مقارنة باللجنين . وتعتبر سرعة تحلل السليولوز على سبيل المثال ثلاثة اضعاف سرعة تحلل اللجنين،وعلى سبيل المثال فأنه لو اضيف الى التربة مادة عضوية نباتية تحتوى على ١٥ ٪ لجنين فأنه بعد ٦ شهور من بدء التحلل ترتفع نسبة اللجنين في المادة المتحللة الى ٣٠ ٪ وبذلك ترتفع نسبة المواد الفينولية العطرية في المواد العضوية وهذه تتحد مع مركبات نيتروجين ومركبات اخرى لتكوين الدبال Humus ونظرا لذلك فالدبال غني بالمركبات العطرية .

اما من ناحية الميكروبات التي تحلل اللجنين في التربة فقد لوحظ ان عدد الميكروبات المحللة له في التربة قليلة ، فلوحظ مثلا ان بعض الميكروبات الهوائية العضوية السالبة لصبغة جرام غير المكونة للجراثيم مثل اجناس Pseudomonas and Flavobacterium قادرة على تحليله كما تستطيع بعض انواع من الـ Actinomycetes تحليله ايضا . ولكن اهم ميكروبات التربة من ناحية القدرة على تحليل اللجنين هي الفطريات وخصوصا بعض الفطريات التابعة لرتب Basidiomycetes, Ascomycetes التي تلعب الدور الاساسي في تحليل الانسجة الخشبية الشديدة الصلابة حيث يستطيع مسليوم هذه الفطريات اختراق انسجة الخشب بمساعدة الانزيمات الخارجية ، ومن امثلة الفطريات المحللة للجنين او المركبات التي يدخل في تركيبها الفطريات الآتية :

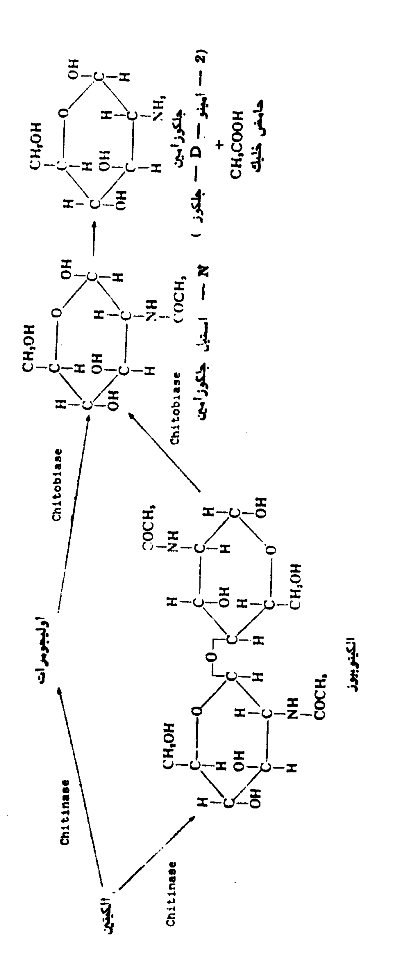
Agaricus, Armillaria, Cladosporium, Humicola, Polyporus, Polystictus, Trichosporon, Ustulina.

الكيتيـــن : Chitin

الكيتين واسع الانتشار فى الطبيعة حيث يوجد فى كثير من النباتات والحشـــرات والاحياء الدقيقة ، وأهمية الكيتين فى دورة الكربون فى التربة ناتجة من أن كثيرا من ميكروبات التربة تكون كمياتا لا بأس بها أثناء عمليات التمثيل الغذائى لها حيث تكون الفطريـــات والعماتر الكيتين لاستخدامه فى بناء جدر الخلايا،بينما لا يدخل الكيتين فى بناء جدر خلايا البكتريا.والكيتين من أهم السكريات الامينية المعقدةamino sugars وجودا فى الطبيعة ومن الناحية الكيماوية فأنه يتركب من سلسلة مستقيمة من وحدات N-acetylglucose-amine ويمكن تمثيلها كما فى شكل رقم (٤ - ١٠) .

Fig. (4-10): N-acetylglucoseamine units in chitin.

والكيتين النقى سريع التحلل فى التربةوتؤدى اضافته الى التربة الى زيادة كبيرة فـى اعداد الميكروبات فيها،وترجع سرعة تحلله الى ان نسبةC/N ratio فيه ضيقة حيث تحتـوى على حوالى ٩ر٦ ٪ نيتروجين . وعلى هذا فان تحلله يصحبه معدنة كمية كبيرة مما به مـــن نيتروجين،اما اذا اضيفت الى التربة مادة طبيعية محتوية على كيتين فان سرعة تحلله تكـــون ابطأ كثيرا من الكيتين النقى،وهذا يتوقف على نوع المواد الاخرى المرتبطة مع الكيتين مـــن المواد الطبيعية ، فقد وجـــد ان اجنحة الحشرات التى تحتوى على مركبات مختلفة مـــن الكيتين يمكن أن تبقى فى التربة بدون تحلل مدة تصل الى ٦ - ١٠ أشهر . وعموما يمكـــن القول بأن من أهم العوامل المؤثرة على تحلل الكيتين هو نوع المواد المرتبطة به من المـــواد الطبيعية فمثلا وجد ان الكيتين فى بعض انواع فطريات الـ Fusarium يحميه من التحلـــل ارتباطه بطبقة من الجلوكانGlucan ، واذا لم يكن الميكروب المحلل محتويا على كلا من انزيم الكيتينيز (Chitinase) والجلوكانيز فأن التحلل لا يتم،وفى بعض الفطريات الاخرى قـــد يوجد مع الكيتين والجلوكان ، سليولوز ايضا لذلك لابد ان يكون تحلله صعبا ما لم توجـــد الانزيمات المحللة للمواد الثلاثة . كما لوحظ ان الكيتين الموجود فى جدر خلايا الفطريات الملونة التى تحتوى على مادة الMelanin او صبغات اخرى يكون مقاوما للتحلل لوجود هذه الصبغات .



شكل رقم (٤-١١) : مسار تحلل الكيتين .

(From Alexander, 1982)

ويوجد فى التربة اعدادا كبيرة من الميكروبات القادرة على تحليل الكيتين حيث تصل اعدادها الى ١٠^٦ فى بعض الاحوال، ويلاحظ انه قد يتعاون اكثر من ميكروب واحد عند تحليل المواد الطبيعية المحتوية على كيتين . وبالنسبة للميكروبات المحللة فيلاحظ أن أغلبها تابع لمجموعة الاكتينومايسيتات Actinomycetes حيث تمثل هذه المجموعة ٩٠ - ٩٩ ٪ من ميكروبات التربة القادرة على تحليل الكيتين بينما نسبة الفطريات المحللة للكيتين لا تزيد عن ١ ٪ من الميكروبات والباقى بكتريا .

ومن بين مجموعة Actinomycetes المحللة للكيتن فأن الغالبية العظمى تتبع جنس Streptomyces ثم قليل من جنس Micromonospora . اما البكتريا المحللة فأنها عبارة عن انواع تابعة لاجناس : Cytophaga, Chromobacterim,, Bacillus, Pseudomonas, Micrococcus, Flavobacterium .

اما الفطريات المحللة فتتبع الاجناس الآتية : Aspergillus, Trichoderma, Mortierella, Mucor, Fusarium, Absidia, Penicillium . علاوة على بعض الـ Basidiomycetes .

أما عن عملية تحلل الكيتين فالمعروف أن جزئ الكيتين كبير فى الحجم حيث لا يمكن للميكروبات امتصاصه، لذلك فلابد ان يتحلل اولا الى مركبات بسيطة حتى يمكن ان تمر داخل جسم الميكروبات ثم بعد ذلك يتم تحلله الى مكوناته الاولية وهى حمض الخليك والجلوكوزامين glucoseamine ، acetic acid ثم بعد ذلك يحدث نزع لمجاميع الامين فى الجلوكوزامين وتتكون امونيا وجلوكوز وتستخدم الميكروبات جزءا من الامونيا لبناء اجسامها والباقى يخرج فى التربة فى صورة نيتروجين معدنى (NH_3) والجلوكوز تستخدمه الميكروبات كمصدر للكربون والطاقة . ويمكن توضيح خطوات التحلل فى الآتى :

```
Chitin  --Chitinase-->  chitinobiose + Oligomers
                                  |
                                  | Chitinobiase
                                  v
glucoseamine + acetic  <------  N - acetylglucoseamine
      |        acid
      v
glucose + ammonia
```

التخمر الميثانى Methane fermentation:

سبق ان ذكرنا انه اثناء تحلل السليولوز لا هوائيا تتكون كميات كبيرة من الميثان بطريقة غير مباشرة . ولقد لوحظ تكون كميات لا بأس بها من الميثان فى الظروف اللاهوائية اثناء تحلل الهيميسليولوز والبروتينات والاحماض العضوية والكحولات ايضا ويمكن القول بأن انتاج الميثان يزداد فى الاراضى المغمورة عند توفر ظروف لاهوائية ومواد عضوية قابلة للاكسدة .

وقد اوضحت الدراسات ان البكتريا المنتجة للميثان تضم مجموعة محدودة متخصصة وقد وضعت فى تقسيم (Bergey, 1984) ضمن البكتريا ذات الصفات غير العادية Bacteria with unusual properties وتقع هذه المجموعة فى ثمانية اجناس منها العصوى والحلزونى والواوى والكروى العادى والكروى فى مكعبات ، وهذه الاجناس هى Methanobacterium, Methanobrevibacter, Methanomirobium Methanogenium, Methanospirillum, Methanosarcina, Methanococcus

وهذه المجموعة الميكروبية توجد فى الاوساط الطبيعية التى تحقق لها الظروف المناسبة للنمو، مثل توفر الظروف اللاهوائية ووجود عمليات تخمر نشطة ينتج عنها H_2 ، CO_2 ومن هذه الاوساط التربة تحت الظروف اللاهوائية والبرك والمستنقعات والرواسب البحرية والقناة الهضمية للانسان والحيوان وخصوصا فى كرش المجترات . والميكروبات المنتجة للميثان Methanogenic bacteria تتميز عن غيرها من الميكروبات بصفات واضحة فهى كلها ميكروبات لا هوائية وهى لاتستخدم السكريات العادية والاحماض الامينية التى يستخدمها غيرها من الميكروبات الهيتروتروفية، فلا تحلل الجلوكوز أو السكريات البسيطة أو المعقدة ولكنها تستخدم فقط فى المزارع النقية الاحماض العضوية والكحولات ذات السلاسل القصيرة كمصادر للكربون مثل احماض Formic, acetic, propionic, butyric etc. والكحولات مثل methanol, ethanol, isopropanol, isobutanol .

أما فى حالة وجود هذه الميكروبات فى مزارع مختلطة فى الطبيعة فانها تستخدم الاحماض العضوية والكحولات التى تنتجها الميكروبات الاخرى من تحلل الكربوهيدرات لاهوائيا وتعتبر بهذا احد الوسائل الاساسية التى يتم بواسطتها التخلص من الاحماض العضوية والكحولات التى تتكون فى التربة تحت الظروف اللاهوائية مما يحد من تراكمها واضرارها على خصوبة التربة وانتاجيتها . وتكون الميثان يتم بواسطة مجموعة من التفاعلات المحددة كما يلى :

$$CO_2 + 4\,H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\,H_2O$$

$$4\,HCOOH \longrightarrow CH_4 + 3\,CO_2 + 2\,H_2O$$

(formic acid)

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

(acetic acid)

$$2\,CH_3CH_2OH \longrightarrow 3\,CH_4 + CO_2$$

(ethyl alcohol)

ومن هذه التفاعلات يتضح ان النواتج الاساسية لها جميعا هى CO_2 ، CH_4 ولكن نسب هذين الغازين لبعضهما تتوقف على نوع مادة التفاعل .

وهناك نظرية توضح ان الميثان المتكون يتم تكوينه اساسا من CO_2 الموجود فى التربة نتيجة تنفس الميكروبات وتحلل المواد العضوية المختلفة، وأن CO_2 هذا يعمل كمستقبل للهيدروجين ويتم اختزاله الى ميثان ، ويمكن توضيح طريقة تكوين الميثان طبقا لهذه النظرية كما يلى :

$$CH_3COOH + 2\ H_2O \longrightarrow 2\ CO_2 + 8\ H^+$$

$$8\ H^+ + CO_2 \longrightarrow CH_4 + 2\ H_2O$$

وبجمع المعادلتين يكون ناتج التفاعل

$$CH_3COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$

وعلاوة على الطريق السابق الذى يتم فيه تكوين الميثان خلال اختزال CO_2 فأن هناك طريقا آخر لتكوينه يحدث فى جنس Methanosarcina حيث امكن باستخدام الكربون ١٤ (^{14}C) اثبات ان هذه الميكروبات تكون الميثان مباشرة من مجموعة الميثيل (CH_3-) الموجودة فى الميثانول أو حمض الخليك .

$$^{14}CH_3COOH \longrightarrow {}^{14}CH_4 + CO_2$$

وهذا معناه ببساطة ان حمض الخليك يحدث له نزع لمجموعة الكربوكسيل Decarboxy-lation منتجا CO_2 ، CH_4. ولقد اظهرت الدراسات ان كلا الطريقتين لانتاج الميثان تحدثان فى الاراضى وان كانت كميات الميثان التى تتكون بالطريقة الثانية اكبر من الاولى .

من حيث الخطوات الوسطية التى تتم مابين اختزال CO_2 بالايدروجين حتى تحوله الى CH_4 بواسطة الانزيمات التى تفرزها الميكروبات اللاهوائية المنتجة لغاز الميثان Methanogenic anaerobes ، فقد اقترحت الخطوات التالية :

$$CO_2 + R\text{-}H \longrightarrow R\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}CHO$$

$$R\text{-}CHO \longrightarrow R\text{-}CH_3 \longrightarrow CH_4 + R\text{-}H$$

ويأخذ الميكروب مايحتاجه من كربون لبناء خلاياه أثناء عملية تكوين غاز الميثان من الخطوات الوسطية للتفاعل .

$$CO_2 \cdots\cdots CH_3\text{-}R \longrightarrow CH_3\text{-}Co\ B_{12} \longrightarrow CH_4$$

ومن العناصر المعدنية الهامة التى يحتاجها الميكروب اثناء نموه ، معدن النيكل الذى يدخل فى بعض المرافقات الانزيمية الخاصة بالنشاط التمثيلى للميكروب .

ويجدر بالذكر انه فى البيئة الطبيعية ، كالتربة مثلا ، فان الميكروب يحمى نفسه من اكسجين الهواء الجوى بما يغلف سطحه الخارجى من ميكروبات لاهوائية اختيارا ، وهذه

يغلفها ميكروبات هوائية ، وبذلك تتوفر الظروف اللاهوائية لبكتريا الميثان الموجودة بالداخل. لذلك يلاحظ انه عند تنمية الميكروب النقى بالمعمل فأنه يلزم توفير الظروف اللاهوائية تماما له ، والا فأنه لن يتمكن من النمو بسبب غياب تلك الحماية التى تتوفر له فى الظروف الطبيعية .

الاثيلـــين : Ethylene

بالاضافة الى غاز الميثان ، فقد يتكون بالتربة ايضا غاز الايثلين $CH_2 = CH_2$ الذى ينتج من تأثير بعض الميكروبات على المواد العضوية . ومن الميكروبات المنتجة لهـذا الغاز بعض الفطريات مثل

Alternaria, Aspergillus, Fusarium, Penicillium

وكذلك بعض الاكتينوميسيتات وبعض انواع البكتريا مثل الانواع المتجرثمة .

تكون غاز الايثلين بتركيزات بسيطة فى التربة قد يكون له تأثير على المجموع الجـذرى للنبات ، فيحدث استطالة للجذور كما انه ينبه الابصال للانبات ويسرع من انبات البـــذور ، غير ان زيادة نسبة الايثلين المتكونة بالتربة تؤدى الى احداث تأثيرات ضارة على النبـــات ومميتة لبعض انواع الميكروبات خاصة الاكتينومايسيتات والفطريات حتى فى وجود تركيزات اقل من واحد جزء فى المليون .

والظروف المناسبة لتكون غاز الايثلين بالتربة بيولوجيا هى وجود مواد عضوية مع نسبة قليلة من الاكسجين ونسبة مرتفعة من الرطوبة ، وعموما فأن غاز الايثلين الناتج يتحلل تحت الظروف الهوائية بفعل الميكروبات .

اكسدة الميثان فى الاراضى : Oxidation of Methane

يتميز الميثان عن غيره من الهيدروكربونات hydrocarbons الغازية بأنه يتكـــون بيولوجيا فى الاراضى بكميات لا بأس بها . كما يتميز بوجود عدد من الميكروبات فى التربـــة قادرة على استخدامه .

وقد اظهرت الدراسات ان سطح المياه التى تغمر اراضى الارز تحتوى على ميكروبـات هوائية قادرة على اكسدة الميثان الذى يتكون فى داخلها وهذه الميكروبات يمكن عزلهـــا بسهولة باستخدام بيئات معدنية تحضن فى جو يحتوى على الاكسجين والميثان . ولقـــد لوحظ ايضا ان الميكروبات المؤكسدة للميثان يمكن أن توجد فى التربة جيدة التهوية حيث تستفيد من تكون الميثان فى الاعماق البعيدة عن الاكسجين او فى المسام الضيقة .

ويتم اكسدة الميثان كما يلى :

$$CH_4 + 2O_2 \longrightarrow CO_2 + 2\,H_2O$$

والميكروبات المؤكسدة للميثان لاتقوم باكسدته كلية الى CO_2 ولكنها تستخدم جزءا منه كمصدر للكربون لبناء خلاياها .

أما من ناحية انواع الميكروبات المؤكسدة للميثان (Methanotrophs) وتسمى احيانا Methylotrophs وهى هوائية حتماءفقد وجد انها تتضمن عددا من اجناس البكتريا منها Methylomonas, Methylococcus, Methylobacter, Mycobacterium علاوة على بعض الفطريات مثل Cephalosporium, Penicillium ،وبعض هذه الميكروبات قادرة على اكسدة الميثانول والفورمالدهيد وحمض الفورميك علاوة على الميثان .

ويقترح أن أكسدة الميثان هوائيا بواسطة الميكروبات تتم فى الخطوات التالية :

$$CH_4 \xrightarrow{O_2} CH_3OH \longrightarrow HCHO \longrightarrow HCOOH \longrightarrow CO_2$$

تحول CO الى CO_2 :

غاز أول أكسيد الكربون غاز سام لكل الكائنات الهوائية بما فيها الانسان ، ورغم أنه يصل الى الهواء الجوى بكميات كبيرة من مصادر متعددة اهمها نواتج الاحتراق ، الا ان نسبته ثابتة تقريبا ، فهى حوالى ١ر. - ٣ر. جزء فى المليون . ويعود السبب فى ذلك الى ان التحولات البيولوجية قرب سطح الارض التى تقوم بها البكتريا اساسا ، تلعب دورا هاما فى هذا الشأن اذ تستعمل غاز CO كمصدر للكربون والطاقة . ومن امثلة هذه البكتريا *Ps. carboxydehydrogena* وهى بكتريا اوتوتروفية تحتوى على انزيم Oxido reductase الذى يعمل كمستقبل لغاز CO_2 . وهذا الانزيم Yellow enzyme من نوع FAD فى السلسلة التنفسية بالبكتريا .

اكسدة الهيدروكربونات : Oxidation of hydrocarbons

الهيدروكربونات هى جزيئات عضوية تتكون من الكربون والايدروجين ، منها المشبع وغير المشبع ، وقد توجد فى صورة مركبات اليفاتية فى سلاسل مستقيمة او متفرعة او حلقية او فى صورة مركبات عطرية .

وهناك العديد من الهيدروكربونات او مشتقاتها التى تضاف الى التربة او تتخلق بداخلها حيويا ، ويكون لتكون هذه المركبات او لمعدنتها اهمية زراعية وبيئية كبيرة .

أولا : المركبات الاليفاتية : Aliphatic compounds

تصل تلك المركبات الى التربة من بعض المخلفات النباتية والميكروبية ومن مبيدات الآفات ومن المخلفات البترولية التى تصل الى التربة من الآبار المنتجة المجاورة لها او من

الانابيب الناقلة التى تمر بها ، كما ان انواعا عديدة من البكتريا لها القدرة على تحليل اسفلت الطرق .

بعض الميكروبات لها القدرة على تحليل المركبات الاليفاتية ذات التركيب C_nH_{2n+2} ومن تلك المواد التى تستطيع الميكروبات النمو عليها :

البارافينات (مثل الميثان ، الايثان ، البروبان ، البيوتان ...) ، الكيروسين ، الجازولين، مواد التشحيم ، الاسفلت ، القطران ، الكاوتش الطبيعى او الصناعى ، وقد لوحظ ان الميكروبات تستطيع ان تحلل هيدروكاربونات تصل عدد ذراتها بالجزئ الى اربعين ذرة كربون أو اكثر ، ولكن من الطبيعى فأن سرعة التحلل تقل بشكل واضح كلما استطالت السلسلة الكربونية .

وفى الاراضى الغنية بتلك المواد الهيدروكربونية (مثل المجاورة لحقول بترول او التى تمر بها انابيب ناقلة للغاز الطبيعى وحدث بها كسر اوثقب) ، فان الميكروبات المحللة لتلك المواد تنشط وتزيد فى العدد وتصل الى عدة بلايين فى الجرام الواحد من التربة ، ويعزيه من كفاءتها توفر الحرارة المناسبة ورقم الـ pH المتعادل .

وتستطيع كثير من الميكروبات تحليل المركبات الاليفاتية ذات السلسلة القصيرة او الطويلة ، غير ان هذه الميكروبات تمتاز بعدم قدرتها على اكسدة الميثان .

ومن امثلة البكتريا المحللة :

Pseudomonas, Flavobacterium, Mycobacterium

ومن الاكتينوميسيتات مثل جنس Streptomyces

ومن الخمائر Candida, Rhodotorula

وذلك بالاضافة الى بعض الفطريات الخيطية .

بعضا من هذه الميكروبات - رغم قدرتها على تحليل المركبات الاليفاتية - الا انها لاتستطيع ان تستخدمها كمصدر للكربون وتسمى هذه الظاهرة باسم Cometabolism او Co-oxidation وفى مثل هذه الاحوال ، فانه عند تنمية هذه الميكروبات على تلك المواد ، فأنه يضاف للبيئة مصدر كربونى آخر مناسب للمساعدة على نموها . وهذه الظاهرة لها اهميتها لانها تلعب دورا هاما فى تحليل بعض المركبات الكيماوية بالميكروبات دون أن تدخل فى التمثيل الميكروبى .

وعمليات تمثيل مركبات الهيدروكربونات كلها تفاعلات تأكسدية ، وتبدأ عمليات تمثيل هذه المركبات تحولها أولا بالاكسدة الى احماض عضوية اليفاتية ثم يلى ذلك اكسدة هذه الاحماض العضوية . ويتم اكسدة مركبات الهيدروكربونات الى الاحماض العضوية بطريقتين هما الاكسدة من طرف واحد Monoterminal oxidation والاكسدة من الطرفين diterminal oxidation .

وتعتبر الاكسدة من طرف واحد اكثر طرق اكسدة الهيدروكربونات شيوعا ،وفيها يتم اكسدة المجموعة الكربونية الطرفية الى مجموعة كاربوكسيل مكونة بذلك الحامض الدهنى المعادل فى عدد ذرات الكربون

$$R.CH_3 \xrightarrow{\text{بالأكسدة}} R.CH_2OH \xrightarrow{-2H} R.CHO \longrightarrow R.COOH$$

primary alcohol — aldehyde — Fatty acid

أما الاكسدة من الطرفين فانها تتم بطريقة مشابهة للطريقة السابقة الا انها تحدث فى المجموعتين الكربونيتين الطرفيتين محولة المركب الى حامض ثنائى الكربوكسيل .
وبعد اكسدة مركبات الهيدروكربونات الى احماض دهنية كما ذكر ، فانها تؤكسد بالتالى بعدة طرق حسب نوع الميكروب أهمها ما يلى :

أ - الاكسدة الفا : Alpha oxidation

ويحدث هذا النوع من الاكسدة بحيث يتم اكسدة ذرةالكربون الفا وهى ذرة الكربون التى تلى مجموعة الكربوكسيل فى الحامض الدهنى ، وتتم هذه الاكسدة على خطوات حيث تتأكسد أولا لتكون مجموعة هيدروكسيل وبذا يتكون حامض دهنى يحتوى على مجموعة هيدروكسيل فى الوضع الفا a-hydroxy fatty acid . يلى ذلك نزع مجموعة الكربوكسيل الطرفية مكونة كحول اولى ثم يتأكسد الى حامض دهنى اقل من الحامض الاصلى بذرة كربون وتتكرر العملية .

$$R.CH_2\text{-}COOH \longrightarrow R.CHOH\text{-}COOH \longrightarrow R.CH_2OH + CO_2 \longrightarrow R.COOH$$

ب - الاكسدة بيتا : Beta oxidation

وهى اكثر طرق اكسدة الاحماض الدهنية شيوعا واكثرها أهمية،ويؤدى هذا النوع من الاكسدة الى ازالة مستمرة لمجموعة خلات Acetate group واحدة بعد الاخرى من الجزئ ، اى ان الجزيئ يفقد ذرتى كربون من السلسلة فى كل دورة اكسدة .

وتبدأ الاكسدة بيتا بتنشيط الحامض الدهنى وتحويله الى ثيواستر مع مرافق انزيمى أ

$$R.COOH + HS\text{-}Co\ A \xrightarrow{ATP \rightarrow AMP\ +\ 2\ Pi} R.CO\text{-}S\ CoA$$

Co A thioester

يلى ذلك تحول هذا المركب الى مركب غير مشبع بنزع ذرتى هيدروجين من الذرتين الفا و بيتا فى السلسلة الكربونية .

$$R.CH_2\text{-}CH_2.\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}S\ CoA \xrightarrow{-2H} R.CH = CH.CO\ S\ CoA$$

ثم يتأدرت هذا الحامض غير المشبع كما يلى :

$$R.CH = CH.CO\ S\ CoA + H_2O \longrightarrow R.CHOH.CH_2.CO\ S\ CoA$$

مكونا حامضا دهنيا به مجموعة هيدروكسيل فى الوضع بيتا - ثم تتأكسد مجموعة الهيدروكسيل الى مجموعة كيتونية .

$$R.CHOH - CH_2\text{-}CO\ S\ CoA \xrightarrow{-2H} R.\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}CH_2.CO\ S\ CoA$$

أى يتكون a-keto acid . وهذا الحامض الكيتونى يتفاعل مع Co-enzyme A كالاتى :

$$R.\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}CH_2\text{-}CO\ S\ CoA + H\ S\ CoA \longrightarrow R.\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}CO\ S\ CoA + CH_3\text{-}CO\text{-}S\ CoA$$

وبهذا يتم ازالة ذرتى كربون من سلسلة الحامض الدهنى وتتكرر العملية حسب الحاجة .

جـ - الاكسدة اميجا : Omega oxidation

وفيها يتم اكسدة الذرة الاخيرة من الحامض الدهنى اى الذرة اميجا وبهذا يتكون حامض دهنى ثنائى الكربوكسيل وبعد ذلك يحدث لهذا الحامض اكسدة متتالية من كل من الطرفين أما بالطريقة الفا او بالطريقة بيتا .

ثانيا : المركبات العطرية : Aromatic compounds

تدخل المركبات العطرية فى تكوين اللجنين والدبال وبعض مبيدات الآفات والانسجة النباتية وفى تركيب الميلانين الذى تفرزه كثير من الفطريات والاكتينوميسيتات ، ورغم ان تلك المركبات العطرية لاتمثل نسبة كبيرة فى المواد العضوية المضافة للتربة ، الا ان مايصل من هذه المواد الى التربة يتعرض بشدة لتأثير الميكروبات .

وعموما فأن تجمع وتراكم هذه المواد بالاراضى نتيجةعدم تحللها ميكروبيا بسبب الظروف اللاهوائية التى قد توجد بالتربة يحدث اضرارا للنبات النامى ، اذ ان كثيرا منها يعتبر ساما للنبات Phytotoxic،وبذلك فأن الميكروبات الهيتروتروفية المحللة لتلك المواد العطرية تلعب دورا هاما فى ازالة سميتها .

تقدر كفاءة الميكروبات فى تحليل المركبات العطرية بحساب كمية CO_2 المتصاعد من التحليل أو كمية الاكسجين المستهلكة او باختفاء المادة نفسها وفى هذه الحالة تستخدم طرق كروماتوجرافية . وقد اوضحت النتائج بأنه بالاضافة الى الظروف البيئية ونوع الميكروبات الموجودة بالتربة ، فأن سرعة تحلل تلك المواد يتوقف ايضا على نوع وعدد واماكن الاستبدال الواقعة على حلقة البنزين بالمركب .

ومن حيث الميكروبات المحللة ، فأن البكتريا تلعب دورا اساسيا فى معدنة المركبات العطرية التى تحتوى على حلقة او حلقتين او ثلاث حلقات من حلقات البنزين مثل مركبات Phenols, naphthalene and anthracene ، وقد تلعب بعض انواع الفطريات والاكتينومايسيتات دورا فى التحليل . ومن اجناس البكتيريا المحللة Pseudomonas, Arthrobacter, Mycobacterium, Bacillus وهى بكتريا هوائية تتواجد بأعداد كبيرة فى التربة .

وتبدأ الخطوات الاولى فى تحلل المركبات العطرية بواسطة الميكروبات ، باجراء تعديلات او ازالة للمجموعات الاستبدالية الواقعة على حلقة البنزين وادخال مجموعات هيدروكسيل ، أما مجموعة الميثيل التى على الحلقة فأنه غالبا ما تتحول الى مجموعة كربوكسيل ، فمثلا فى حالة المركبات ذات حلقة البنزين الواحدة مثل التولوين Toluene فأن تحلله يمثل بالتفاعل الآتى :

$$R-CH_3 \rightarrow R-CH_2OH \rightarrow R-CHO \rightarrow R-COOH \rightarrow R(OH)_2$$

Toluene → Benzyl alcohol → Benzyl aldehyde → Benzoic acid → Catechol

وعموما فأن أهم المركبات الوسطية الناتجة من تحلل المركبات العطرية هى الثلاث مركبات التالية التى يحتوى كل منها على مجموعتى هيدروكسيل

Catechol — Protocatechuic acid (3,4 dihydroxy benzoic acid) — Gentisic acid (2,5 dihydroxy benzoic acid)

المركبات الحلقية الوسطية الثلاثة الناتجة من تحلل المواد العطرية تتأكسد هوائيا بواسطة الميكروبات حيث ان كسر الحلقة يحتاج الى الاكسجين الهواء الجوى ، وفى غيابه ، أى تحت الظروف اللاهوائية ، فأن المركبات العطرية الوسطية الناتجة تبقى متراكمة بالتربة ، ويلى التأكسد الهوائى فتح حلقة البنزين ثم تكون مواد اساسية مثل احماض خليك ، بيروفيك ، سكسنيك ، فيوماريك ، أسيتالدهيد ، وهى مواد سهلة التمثل بواسطة الميكروبات .

Proposed pathway for benzoic acid catabolism

شكل رقم (٤ - ١٢) : مسار مقترح لهدم حمض البنزويك .

(From El-Morsi,E.A., 1985. Annals Agric.Sci., Fac. Agric., Ain-Shams Univ., Cairo, 30 (2), 721-737).

Benzene
Phenol
Toluene
Benzyl alcohol
Benzaldehyde
Benzoic acid
Catechol
Salicylic acid
Anthranilic acid
m-Nitrobenzoic acid
m-Cresol
m-Hydroxybenzoic acid
m-Methoxybenzoic acid
Protocatechuic acid
Vanillic acid
p-Nitrobenzoic acid
p-Hydroxybenzoic acid
p-Methoxybenzoic acid
m-Cresol
m-Hydroxybenzoic acid
Gentisic acid

شكل رقم (٤ - ١٣) : الخطوات الاساسية للتحلل الحيوى لبعض المواد العطرية.

(From Alexander, 1982).

فى حالة المركبات الحلقية التى تتكون من اكثر من حلقة بنزين مثل النفثالين والنافثول (٢ حلقة) وغيرها ، فانها تتعرض ايضا لمهاجمة الميكروبات حيث تزيل حلقة بنزين فى كل خطوة وفى النهاية ينتج مركب وسطى ذو حلقة بنزين واحدة مثل Catechol, gentisic acid وهذه المركبات تستمر فى تحللها كما ذكرنا سابقا ، كما هو موضح فى التفاعلات التالية :

Phenanthrene → 1-Hydroxy-2-naphthoic acid → 1,2-Dihydroxynaphthalene ← Naphthalene

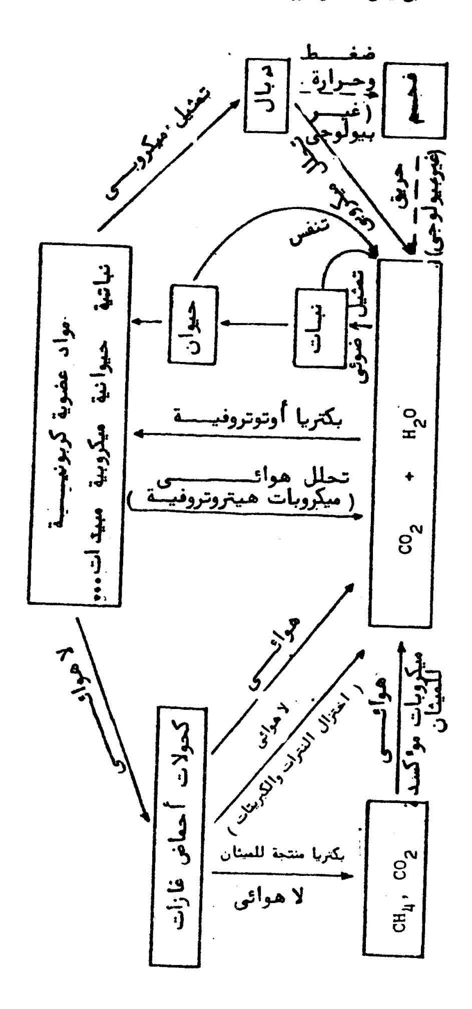
1,2-Dihydroxynaphthalene → Salicylic acid → Catechol

Anthracene → 3-Hydroxy-2-naphthoic acid → Salicylic acid

β-Naphthol → Gentisic acid

شكل رقم (٤ - ١٤) : تحلل المركبات ذات الحلقتين والثلاث حلقات .
(From Alexander, 1982).

مما سبق يمكن تلخيص دورة الكربون فى الطبيعة كما يلى :



شكل رقم (٤-١٥) : دورة الكربون فى الطبيعة .



الفصل الخامس

٥ — دورة النتروجين
NITROGEN CYCLE

للنشاط البيولوجي فى معدنة النتروجين والفوسفور والبوتاسيوم أهمية اقتصادية كبيرة نظرا لانها العناصر السمادية الاساسية لتغذية النبات . ويعتبر الازوت اهمها نظرا لان هذا العنصر يعتبر الحجر الاساسي فى جزئ البروتين وبالتالى اساس البروتوبلازم فى جميع الكائنات الحية ، وبالاضافة فان النتروجين والمركبات النتروجينية من اكثر المركبات تعرضا للتغيرات البيولوجية ، وللنيتروجين وضع حساس بالنسبة لخصوبة التربة ولانتاج المحاصيل كذلك فانه من العناصر القليلة التى تتعرض للفقد بالتطاير او الغسيل لذلك يجب مداولة وملاحظة مستواه فى التربة ، وافتقار التربة فى النتروجين يؤثر تأثيرا شديدا على غلة المحاصيل ونوعيتها . ويضاف النتروجين الى التربة الزراعية فى صورتين احداهما غير عضوية على هيئة اسمدة نيتراتية أو نوشادرية أو سيناميد أو غيرها . اما الثانية فهى عضوية وهى تشمل بقايا النباتات Crop residues والاسمدة الخضراء والسماد العضوى الصناعى Compost كما تشمل بقايا حيوانية كالسماد البلدى المحتوى على بول وروث الحيوانات وايضا بقايا السلخانات وسماد المجارى وغيرها .

وكما هو معلوم فأن النبات يمثل معظم احتياجاته من النتروجين على صورة معدنية . لذلك فأن معدنة المواد العضوية النتروجينية عملية اساسية لدورة النتروجين وخصوبة التربة ، وهذه العملية تشابه تحرر CO_2 فى تحلل المواد العضوية الكربونية .

وتتعرض مركبات النتروجين فى التربة الى عديد من التغيرات الحيوية تؤثر على مدى قابليتها لاستفادة النبات . وهذه التغيرات تتضمن معدنة النتروجين العضوى Nitrogen mineralization حيث يتحلل جزء من محتوى النتروجين العضوى فى الاراضى والذى يتضمن البروتينات والاحماض النووية والسكريات الامينية وغيرها ، والناتج النهائى لعملية التحلل هو الامونيا لذلك فأن هذه العملية يطلق عليها اسم النشادرة Ammonification ، والامونيا المتكونة لا تلبث أن تتعرض للاكسدة البيولوجية خلال عملية التأزت Nitrification والعمليتان السابقتان لهما فائدة كبيرة للنبات النامى حيث أن الامونيا والنترات هما الصورتان الرئيسيتان اللتان يمتصهما النبات .

ومن الناحية الاخرى فأن ميكروبات التربة النامية قد تلجأ الى النترات عند سيادة الظروف اللاهوائية وتختزلها الى امونيا أو أكاسيد نتروجينية او حتى الى غاز النتروجين ، وذلك حتى تستطيع اكسدة المواد العضوية والمعدنية فى ظروف غياب الاكسوجين وتسمى هذه

العمليات اختزال النترات وانطلاق الازوت Nitrate reduction and denitrification وتعتبر هذه التفاعلات ضارة بالنبات حيث تؤدى الى فقد جزء من الصورة الصالحة للنبات .

ومن التحولات الاخرى التى تحدث فى دورة النتروجين عملية تمثيل النتروجين فى اجسام الميكروبات Nitrogen immobilization ، وفى هذه العملية تقوم الميكروبات بامتصاص صور النتروجين المعدنية الموجودة فى التربة وتستخدمها فى بناء اجسامها ، وهذا طبعا يقلل من مستوى النتروجين اللازم لنمو النبات فى الارض مؤقتا ، اذ انه بعد موت هذه الميكروبات ، فان خلاياها تتحلل الى صور نتروجينية صالحة لتغذية النبات .

وسنتكلم عن تأثير الميكروبات المختلفة على التحولات النتروجينية التى سبق الاشارة اليها.

أولا : معدنة النتروجين العضوى : NITROGEN MINERALIZATION

تسمى عملية التحول البيولوجى للمركبات النتروجينية العضوية الى الصورة المعدنية بالمعدنة mineralization ، ولقد اظهرت الدراسات ان كثيرا من ميكروبات التربة تستطيع تحليل النتروجين العضوى وأن معدل التحلل يكون سريعا جدا عند اجراء هذا التحليل فى البيئات المعملية ، بينما يتم هذا التحلل ببطء واضح فى التربة حيث يتم معدنة جزء ضئيل من النتروجين العضوى خلال الموسم الواحد ، وهذا مهم للحفاظ على مستوى النتروجين فى التربة والذى يعتبر المخزن التى تستمد منه النباتات جزءا كبيرا من احتياجاتها من هذا العنصر .

ولقد وضعت جملة نظريات لتفسير التحلل البطىء للمواد النتروجينية فى التربة تقول احداها ان البروتين يكون مركب معقد مع المركبات النتروجينية الموجودة فى الدبال مثل protein-legnin complex ، وهذه المركبات ابطأ فى التحلل عن البروتين ، وهناك نظرية أخرى توضح ان معادن الطين تحفظ النتروجين من التحلل السريع عن طريق امساكه بين البلورات within the crystal lattice of clay minerals او ادمصاصه ، وايضا ان الانزيمات المحللة للبروتينات (وهى طبعا مواد بروتينية) تدمص على معادن الطين مما يقلل من نشاطها فى تحليل البروتين .

وعملية معدنة النتروجين العضوى تتضمن خطوتين منفصلتين هما النشـــدرة Ammonification وهى عبارة عن تحلل النتروجين العضوى حتى تكون الامونيا ثم التأزت Nitrification وهى اكسدة الامونيا الى نترات .

أ - النشــدرة : AMMONIFICATION

تحتوى التربة الزراعية على اعداد ضخمة من الميكروبات القادرة على تحليل المواد العضوية النتروجينية مثل البروتين والاحماض النووية وغيرها منتجة الامونيا كناتج أساسى لتحلل البروتين. والميكروبات المحللة للبروتين تتضمن البكتريا الهوائية واللاهوائية والاختيارية والاكتينومايسيتات والفطريات والنواتج النهائية لتحلل البروتين هوائيا هى الامونيا H_2S, CO_2, H_2O. امـــا التحلل تحت الظروف اللاهوائية فانه عادة يصحبه روائح كريهة ، وتسمى عملية التحلل باســم تعفن Putrefaction . وفى هذه الحالة فان نواتج التحلل عبارة عن الامونيـــــا ، امــــات ، أحماض أمينية ، أحماض عضوية skatole, marcaptane, CO_2, H_2S وغيرهــــا .

وتتم عملية تحلل البروتين بواسطة الانزيمات الخارجية المحللة للبروتينات Proteases التى تفرزها الميكروبات ، وهذه الانزيمات تقوم بتكسير السلسلة الببتيدية لجزئ البروتـــين بالتحلل المائى،والانزيمات الميكروبية المحللة للبروتين يمكن تقسيمها الى قسمين همــــا Exopeptidases وهى الانزيمات التى تحلل الروابط الببتيدية الطرفية فى السلسلة ، Endopeptidases وهى التى تحلل الروابط الببتيدية الداخلية فى السلاســل . وعملية تكسير السلاسل الببتيدية فى جزئ البروتين ضرورية حتى يمكن تحلله تحللا كاملا وذلك حيث أن جزئ البروتين كبير الحجم جدا ولا يمكن أن ينفذ خلال جدر وأغشية خلايا الميكروبات لذلك لابد أن يتحلل خارجيا الى جزئيات اصغر فأصغر حتى تكون الوحدات الاساسية وهـــى الاحماض الامينية .

Protein ⟶ proteoses ⟶ peptones ⟶
⟶ polypeptides ⟶ dipeptides ⟶ amino acids.

والاحماض الامينية المتكونة خلال التحلل تستخدمها الميكروبات الهيتروتروفية كمصـــادر للنتروجين والكربون،ويتم تحلل الاحماض الامينية بواسطة الميكروبات بطرق عديدة تختلف حسب نوع الميكروب . والهدف من هذا التحليل هو نزع مجاميع الامين الموجودة فى جزئ الحمض الامينى لتكوين الامونيا والتى تستخدم هذه الميكروبات جزءا منها فى احسامها والزائد ينفرد فى التربة .

ويمكن تلخيص طرق تحلل الاحماض الامينية كالآتى :

I. Decarboxylation:-

نزع مجموعة الكربوكسيل مع تكوين مركبات قاعدية تعرف بالامينات Amines .

$$\underset{\displaystyle NH_2}{\overset{}{R\text{-}CH\text{-}COOH}} \longrightarrow \underset{\displaystyle NH_2}{R\text{-}CH_2} + CO_2$$

amine

$$\underset{NH_2}{R\text{-}CH_2} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{alcohol}}{R\text{-}CH_2OH} + NH_3$$

II. Deamination :-

نزع مجموعة الامين مع تكوين أمونيا ، ويتم ذلك بعدة طرق منها :

1. Oxidative deamination :

بالاكسدة .. وفيها يتكون حمض كيتونى .

$$\underset{NH_2}{R\text{-}CH\text{-}COOH} + O_2 \longrightarrow \underset{\text{a-keto acid}}{R\text{-}CO\text{-}COOH} + NH_3$$

2. Reductive deamination :

بالاختزال .. وفيها يتكون حمض دهنى .

$$\underset{NH_2}{R\text{-}CH\text{-}COOH} + H_2 \longrightarrow \underset{\text{aliphatic acid}}{R\text{-}CH_2\text{-}COOH} + NH_3$$

3. Hydrolytic deamination :

بالتحلل المائى .. مع تكوين حمض به مجموعة أيدروكسيل .

$$\underset{NH_2}{R\text{-}CH\text{-}COOH} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{a-hydroxy acid}}{R\text{-}CHOH\text{-}COOH} + NH_3$$

<u>Or</u>

$$\underset{NH_2}{R\text{-}CH\text{-}COOH} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{aldehyde}}{R\text{-}CHO} + R\text{-}COOH + NH_3$$

4. Hydrolytic deamination & decarboxylation :

بالتحلل المائى .. مع نزع مجموعتى الامين والكربوكسيل،وفيه يتكون كحول أولى مع نقص ذرة كربون .

$$\underset{NH_2}{R\text{-}CH\text{-}COOH} + H_2O \longrightarrow R\text{-}CH_2OH + CO_2 + NH_3$$

5. Desaturation :

عدم التشبع مع تكوين حمض غير مشبع .

$$R\text{-}CH_2\text{-}\underset{NH_2}{CH}\text{-}COOH \longrightarrow \underset{\text{unsaturated acid}}{R\text{-}CH = CH\text{-}COOH} + NH_3$$

6. Stickland reaction :

وفيه يقوم الميكروب باستخدام حامضين امينيين فى وقت واحد أحدهما يختزل والآخر يؤكسد مع نزع مجاميع الامين فى الحامضين .

$$NH_2\text{-}\underset{COOH}{\overset{R}{CH}} + NH_2\text{-}\underset{COOH}{\overset{R}{CH}} + H_2O \longrightarrow \underset{COOH}{\overset{R}{C}} = O + \underset{COOH}{\overset{R}{CH_2}} + 2\ NH_3$$

الميكروبات التى تحلل المواد البروتينية :

يقدر عدد الميكروبات التى لها القدرة على تحليل المواد البروتينية فى التربة (ميكروبات النشدرة) من ١٠^٥ الى ١٠^٧ للجرام الواحد،ولكن هذا التقدير قليل الاهمية بالنظر الى ان العامل الاساسى المتحكم هو نوع المادة العضوية النتروجينية المستخدمة فى البيئة Culture medium ،فهناك مثلا عدد كبير من الميكروبات تستطيع تحليل الحمض الامينى البسيط بينما نتروجين الكيتين لاتستطيع معظم الميكروبات تحليله .

والميكروبات التى تحلل البروتين تتكون من ميكروبات هوائية وتضم بكتريا ، اكتينومايسيتات ، فطريات ، بالاضافة الى بعض الميكروبات الهوائية اختيارا والميكروبات غير الهوائية . ويمكن تلخيص الميكروبات التى تتحلل البروتين فى الآتى :

١) **الميكروبات الهوائية :**

أ) بكتريا عصوية متجرثمة مثل *B. subtilis*, *B. mycoides*

ب) بكتريا عصوية غير متجرثمة تشمل الاجناس التالية :

Pseudomonas, *Proteus*, *Arthrobacter*

جـ) بعض انواع من البكتريا الكروية مثل : *Sporosarcina*, *Micrococcus*

د) الاكتينومايسيتس وخصوصا جنس *Streptomyces*

هـ) الفطريات مثل :

Aspergillus, *Alternaria*, *Penicillium*, *Rhizopus*... etc

٢) **الميكروبات اللاهوائية :**

وتشمل Proleolytic Clostridia

مثل *Clostridium sporogenes*

العوامل المؤثرة على نشدرة النتروجين العضوى :

Factors affecting ammonification

نظرا لان الانواع الميكروبية القادرة على معدنة النتروجين العضوى عديدة فمنها الهوائية واللاهوائية والمتجرثمة وغير المتجرثمة والحساسة للحموضة والمقاومة لها والميزوفيلية والثرموفيلية

... الخ ، لذلك فأنه من المتوقع أن عددا من الميكروبات القادرة على معدنة النتروجين العضوى تكون نشطة باستمرار بصرف النظر عن الاختلاف فى الظروف والبيئة مادامت فى الحدود التى لاتمنع النشاط الميكروبى ، وعلى ذلك فأن عملية المعدنة لاتتوقف أبدا فى التربة الخصبة وانما تتحكم العوامل الطبيعية والكيماوية فى معدلها فقط .

فقد وجد أن معدل معدنة النتروجين العضوى يرتبط ارتباطا وثيقا بمحتوى التربة من النتروجين الكلى فكلما زادت النسبة زاد معدل النشدرة ، ولقد قدر أنه أثناء الموسم الواحد لمحصول الذرة فان ٦٨ - ١٣٦ رطل نتروجين/فدان يتم معدنته فى تربة نسبة النتروجين الكلى فيها ١٧ر٠ ٪ ، وعموما فأنه خلال الموسم الواحد يتم معدنة كمية تعادل ٢ - ٤ ٪ من النتروجين العضوى فى التربة الخصبة .

ومن العوامل المؤثرة ايضا حالة الصرف ، فالاراضى سيئة الصرف ينخفض فيها معدل النشاط البيولوجى ، وهذا ينعكس على عملية المعدنة .

كما تؤثر رطوبة التربة على معدل المعدنة ، فقد وجد أن الامونيا تتكون ببطء جدا على درجة رطوبة قريبة من نقطة الذبول Permanent wilting point وانه بزيادة الرطوبة عن ذلك يزداد معدل النشدرة بالتدريج ، ودرجة الرطوبة المثلى لعملية النشدرة حوالى ٥٠ - ٧٥ ٪ من WHC وفى الاراضى الغدقة فأن العملية لاتتوقف بل تكون سريعة لحد ما ، وعند غمر التربة فأن الامونيا تتزايد الى حد معين ثم تتوقف عند هذا الحد ، وذلك لان الامونيا المتكونة تتراكم ولايحدث لها اكسدة ، والمعروف ان تراكم الامونيا يضر بنمو الميكروبات .

ومن ناحية اخرى ، فقد لوحظ فى المناطق الجافة ونصف الجافة والاراضى التى تستخدم فيها نظام الرى، فأن الجفاف واعادة الترطيب يؤدى الى زيادة واضحة فى كمية الامونيا فى التربة بعد اضافة الماء اليها مباشرة . وفى الاراضى المصرية يلاحظ أنه بعد تعريضها لفترة شراقى بين محصولين ثم اعادة ريها ، فأن نسبة النتروجين المعدنى فيها ترتفع بشدة ، ولقد فسر ارتفاع نسبة الامونيا فى التربة نتيجة التجفيف والترطيب الى ان تكرار التجفيف والترطيب يؤدى الى حدوث تغييرات فى المواد العضوية تجعلها اكثر قابلية للتحلل . كما ان التجفيف يؤدى الى موت عديد من الميكروبات ، وعند اعادة الترطيب فأن هذه الميكروبات تتحلل سريعا مما يزيد من مستوى النتروجين المعدنى فى التربة .

ويؤثر pH التربة على معدل النشدرة ، فقد لوحظ أنه لو تساوت كل الظروف فأن معدل المعدنة يكون اسرع فى الاراضى المتعادلة عن الحامضية، والحموضة تقلل العملية ولكن لاتوقفها ، وعلى ذلك فأن اضافة الجير للتربة الحامضية يزيد من العملية ، وايضا اصلاح التربة القلوية تزيد من العملية .

والحرارة ايضا عامل هام فعند درجة ٢°م تكون النشدرة بطيئة جدا ، أما فى التربة المتجمدة فأنه لم يلاحظ فيها اى زيادة فى نسبة الامونيا أو النترات ولكن بارتفاع درجة الحرارة فأن معدل المعدنة يزداد،ودرجة الحرارة المثلى للعملية تختلف عن درجة الحرارة المثلى لاغلب العمليات الحيوية فى التربة حيث أن الدرجة المثلى لاتعتبر فى النطاق الميزوفيلى ، بل تكون فى حدود من ٤٠ -٦٠°م ، ولقد لوحظ تراكم الامونيا فى اكوام السماد البلدى والعضوى والصناعى Compost التى تصل درجة حرارتها الى ٦٥°م مما يوضح دور الميكروبات الثرموفيلية فى عملية المعدنة .

ومن العوامل المؤثرة ايضا على سرعة تحلل المواد البروتينية بالتربة معادن الطين المكونة لها ، فمن المعروف ان لمعادن الطين القدرة على ادمصاص البروتينات والانزيمات وهذا يقلل من النشاط الحيوى للميكروبات ، كما ان معادن الطين تختلف فيما بينها فى هذه الخاصية ، حيث وجد ان لمعدن Montmorillonite قدرة اكبر فى الادمصاص عن معدن الـ Illite وهذا قدرته اكبر من معدن الـ Kaolinite .

وبالاضافة الى ماسبق فان نسبة الكربون الى النتروجين C/N ratio فى المادة العضوية المتحللة تعتبر من اهم العوامل المؤثرة على معدل معدنة النتروجين العضوى،فمن المعروف انه اثناء تحلل المادة العضوية النتروجينية فأن الميكروبات تمثل جزءا من النتروجين الموجود فيها لبناء اجسامها والباقى يخرج فى التربة فى صورة امونيا ، وعلى ذلك فاذا كانت نسبة الكربون الى النتروجين متسعةاى ان نسبة النتروجين منخفضة بالنسبة للكربون،فان الميكروبات تمثل كل النتروجين الموجود فى المادة العضوية فى اجسامها بل وقد تلجأ الى النتروجين المعدنى الموجود اصلا فى التربة وتمثله،مما يحدث نقصا مؤقتا فى النتروجين الصالح للنبات ، وعلى العكس اذا كانت النسبة ضيقة narrow فأن عملية المعدنة تتم ، وسنناقش موضوع نسبة الكربون الى النتروجين بتفصيل اكثر فيما بعد .

تحلل الاحماض النووية :

الاحماض النووية تلى البروتينات مباشرة من حيث اهميتها كمصدر نتروجينى للميكروبات ، وهى توجد فى الانسجة النباتية والحيوانية . وفى بروتوبلازم الميكروبات . وتتكون الاحماض النووية RNA, DNA من العديد من النيوكلوتيدات polynucleotides وتتكون النيوكليوتيدة الواحدة من قاعدة نتروجينية Purine or Pyrimidine وسكر خماسى وفوسفات .

الميكروبات المحللة للاحماض النووية تقوم بتكسير السلسلة الطويلة من النيوكليوتيدات لتعطى اجزاء اصغر ، واخير يتكون نيوكليوتيدات مفردة Mononucleotide ويتم ذلك بواسطة انزيمات خارجية تفرزها الميكروبات مثل أنزيم Ribonuclease and deoxyribo-nuclease . وبعد تكوين النيوكليوتيدات المفردة (monomer) يستمر التحلل

بانـزيم Nucleotidase . حيث ينفرد الفوسفات وينتج نيوكليوسـيدة nucleoside وبتحلل هذا بانزيم nucleosidase فينفرد السكر من القواعد النتروجينية .

$$\underset{\text{Nucleic acid}}{(\text{N-Base - Sugar - P})_n} \xrightarrow{\text{NA-ase}} \underset{\text{Mononucleotide}}{\text{N-Base - Sugar-P}}$$

$$\text{Mononucleotide} \longrightarrow \text{N-Base - Sugar (Nucleoside)+P}$$

$$\text{Nucleoside} \longrightarrow \text{N-Base + Sugar}$$

$$\text{N-Base (Purine or pyrimidine)} \longrightarrow \text{glyoxilic acid + urea}$$

السكر الخماسى الناتج يستخدمه الميكروب كمصدر للكربون والطاقة وينفرد منه CO_2 ، أمـا القواعد النتروجينية فتتحلل كما هو موضح بالشكل رقم (٥-١) ويتكون حمض جليوكسيليـك ويوريا .

تحلل حمض اليوريك :

من الطرق الشائعة فى تمثيل هذا الحمض مايتم بواسطة بكتيريا *Pseudomonas* ، حيث يتأكسد حمض اليوريك الى الانتوين بانزيم Ureate oxidase مع انطلاق غـاز ك أ٢ ، ويتبع ذلك عملية تميؤ (باضافة جزئ ماء) بواسطة انزيم hydrolase ليتكـون حمض الانتويك ، وأخيرا يتكون حمض الجليوكسيليك وتنفرد اليوريا .

$$\text{Uric acid} \xrightarrow{O_2\text{ + oxidase}} \underset{+\ CO_2}{\text{Allantoin}} \xrightarrow{H_2O\text{ + hydrolase}} \text{Allantoic}$$

$$\xrightarrow{H_2O\text{ + hydrolase}} \underset{+\ \text{urea}}{\text{Ureido glycolic acid}} \xrightarrow{\text{lyase}} \underset{+\ \text{urea}}{\text{glyoxylic acid}}$$

تحلل اليوريا : DECOMPOSITION OF UREA

تتكون اليوريا فى التربة نتيجة لتحلل القواعد النتروجينية الموجودة فى الاحماض النووية كما تضاف اليوريا للتربة كسماد او فى بقايا الحيوانات ، وتتكون اليوريا من القواعد النتروجينية للاحماض النووية كما هو موضح بالشكل رقم (٥-١) .

وتتميز اليوريا كسماد بارتفاع نسبة النتروجين فيها مقارنة مع الاسمدة النتروجينيـة المعدنية المختلفة حيث تصل نسبة النتروجين فيها الى حوالى ٤٦٪ ، وتعتبر هذه مـيزة كبيرة ساعدت على التوسع فى انتاجها عالميا نظرا لان تكاليف عمليات نقل الاسمدة اصبحـت تمثل جزءا هاما من تكلفة السماد ، واستخدام سماد مثل اليوريا مرتفع فى نسبة النتروجـين يمثل خفضا كبيرا فى تكاليف النقل لوحدة السماد .

ولقد اتجهت جمهورية مصر العربية الى انتاج اليوريا واصبحت تمثل اهم الاسمـدة النتروجينية الآن ، حيث تنتج فى مصنعين كبيرين فى ابى قير وطلخا ، ويستخدم الغـاز الطبيعى المتوفر فى مصر فى ادارة هذين المصنعين .

شكل رقم (٥-١) : خطوات تمثيل البيورين والبيريميدين .

(From Alexander, 1982).

واليوريا المضافة للتربة او المتكونة فيها من تحلل الاحماض النووية تتحلل بسرعة كبيرة ، ولقد قدر انه لو اضيفت اليوريا بمعدل ٢٠٠ - ٤٠٠ جزء في المليون ppm فانها تتحلل الى امونيا في ظرف اسبوع واحد على درجة ١٥ °م ، وأن معدل التحلل يكون اسرع مع رفع درجة الحرارة عن ذلك والدرجة المثلى للتحلل ٣٧ °م . ونظرا لسرعة تحلل اليوريا الى امونيا في التربة فأن pH التربة يرتفع مؤقتا ، وفي بعض الاحوال قد يؤدى التحلل السريع الى تطاير جزء من الامونيا المتكونة وخصوصا في الاراضي المنخفضة في القدرة التنظيمية Low buffering capacity ؛ لذلك فكثيرا ماينصح باضافة اليوريا على اعماق لتقليل الفقد . والارتفاع في الـ pH الذى يحدث نتيجة لاضافة اليوريا لا يلبث ان يعقبه انخفاض واضح فيه نتيجة لاكسدة الامونيا الى نترات .

ويتم تحليل اليوريا في التربة بواسطة انزيم اليورياز Urease (Nickle-metallo-enzyme) طبقا للمعادلة الآتية :

$$NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 + H_2O \longrightarrow \underset{\text{(ammonium carbamate)}}{H_2N\text{-}COO\text{-}NH_4} \longrightarrow 2NH_3 + CO_2$$

واعداد الميكروبات المحللة لليوريا Ureolytic organisms تختلف من بضعة آلاف في الاراضي الحامضية الى اكثر من مليون في الجرام في انسب الاراضي (المتعادلة أو المائلة للقلوية الخصبة) ويستطيع كثير من الفطريات والاكتينومايسيتات تحليل اليوريا . والبكتريا المحللة لليوريا تتبع اجناسا عديدة ومنها الاجناس التالية :

Bacillus, Micrococcus, Pseudomonas, Klebsiella, Corynebacterium, Clostridium.

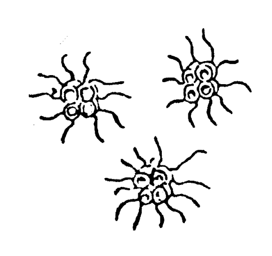
وهذه الاجناس يتبعها انواع قادرة على تحليل اليوريا تحت مختلف الظروف، ولكن علاوة على ماسبق فهناك مجموعة متخصصة في تحليل اليوريا يطلق عليها اسم بكتريا اليوريا Urea bacteria وهذه الميكروبات تتميز بقدرتها العالية على تحمل تركيزات عالية من الامونيا ومن هذه الميكروبات مجموعتين ، مجموعة كروية ومجموعة عصوية ، وهما تتميزان بقدرتيهما على النمو في الوسط القاعدى وانتاجهما كمية عالية من الامونيا والمجموعة الكروية يتبعها :

Micrococcus urea, Sporosarcina urea,

أما المجموعة العصوية المتجرثة فيتبعها :

Bacillus freudenreichii, Bacillus pasteurii, Bacillus sphaericus.

وبكتريا اليوريا حساسة جدا للحموضة ولتنميتها في المعمل لابد من ان تكون البيئة الغذائية مائلة للقلوية، ولا تستطيع بكتريا اليوريا النمو في التربة الحامضية لذلك فان تحلل اليوريا في هذه التربة يتم بواسطة ميكروبات غير متخصصة .



١
٢
٣

١- خلية خضرية .
٢- اسبورانجيوم .
٣- جرثومـــة .

Sporosarcina urea — *Bacillus pasteurii*

شكل رقم (٥-٢) :

تكوين البيوريت فى اليوريا : Biuret formation

عند ما تتعرض اليوريا لدرجة حرارة اعلى من درجة انصهارها (١٣٣°م) فانها تتفاعل وتكون عدة نواتج ، فعند درجة ١٤٠ - ١٧٠°م فأنه ينتج البيوريت biuret نتيجة اتحاد جزئين من اليوريا وفقد الامونيا كما يتضح من المعادلات التالية :

$$NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 \xrightarrow{-NH_3} HCNO \text{ (isocyanic acid)}$$

$$HCNO + NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 \longrightarrow H_2N\text{-}NH\text{-}NH_2 \text{ (with two CO bridges)}$$

Biuret

وقد لاحظ بعض الباحثين انه قد تتكون ايضا مادة البيوريت فى محاليل اليوريا الساخنة لدرجة اعلى من ٥٠°م .

مادة البيوريت الناتجة مادة سامة لكل من النبات والحيوان حتى ولو وجدت بكميـــات قليلة فى السماد او العليقة .

وهذا امر اثار اهتمام الكثير من الباحثين فى السنوات العشر الاخيرة .

وقد تسبب اليوريا سمية للنباتات عند استعمالها كسماد بالاراضى نتيجة لعدم نقاوتها باحتوائها على مركبات سامة مثل البيوريت وسيانيد الامونيوم NH_4CN وهى مركبات يمكـــن ان تتكون اثناء عملية تحبب اليوريا بالحرارة .

وقد لوحظت ظاهرة التسمم بالبيوريت عند التسميد بالرش لبعض المحاصيل،كالمن والموالح والتفاح بمحلول اليوريا (المحتوى على بيوريت)،حيث حدث اصفرار بالاوراق وجفافها وعجز النباتات عن النمو ، كما لوحظت تلك الظاهرة ايضا على بعض المحاصيل الحقلية مثل الذرة والقمح وغيرها عند ما اضيف سماد اليوريا (المحتوى على بيوريت) الى التربة .

وعموما فان التأثير السام لمادة البيوريت على النبات يتوقف على مدى تركيزها باليوريا المستعملة كسماد وعلى نوع النبات النامى وطريقة التسميد .. الخ . فقد اوضحت بعض البحوث ان التركيز السام للبيوريت باليوريا يتراوح من عدة اجزاء بالمليون فى حالة التسميد بطريق الرش لبعض النباتات الى ٢ ٪ عند ما استعملت اليوريا كسماد ارضى للبرتقال ، وقد يعود التأثير السام للبيوريت الى اعاقتها لعملية التمثيل البروتينى بالنبات .

نسبة ك : ن وتمثيل النيتروجين فى اجسام الميكروبات :
C/N Ratio and nitrogen immobilization

سبق أن ذكرنا أنه اثناء تحلل المادة العضوية فأن الميكروبات تمثل جزءا من محتواها النيتروجينى لبناء اجسامها ، وماتبقى بعد ذلك يخرج فى التربة فى صورة امونيا ، وتلعب نسبة الكربون للنتروجين C/N ratio دورا رئيسيا فى معدنة النتروجين العضوى فـإذا كانت هذه النسبة متسعة ، أى أن نسبة الكربون عالية بالنسبة للنتروجين ، فمعنى ذلك أن الميكروبات اثناء تحليلها للمادة العضوية وبناء خلاياها لن تجد النتروجين الكافى للبناء، لذلك فأنها تأخذ كل النتروجين الموجود فى المادة العضوية لبناء اجسامها ولاتحدث معدنة، واذا لم يكفيها فأنها تأخذ النتروجين الموجود فى التربة فى صورة معدنية،وتسمى عملية تحويل النتروجين المعدنى الموجود فى التربة الى نتروجين عضوى فى اجسام الميكروبات immobilization ،وفى هذه الحالة فأن التربة تعانى نقصا مؤقتا فى النتروجين الصالح لتغذية النبات .

اما اذا كانت C/N ratio ضيقة أى أن المادة العضوية غنية بالنتروجين فـأن الميكروبات تجد فيها ما يكفيها لبناء خلاياها ، والباقى تحدث له عملية معدنة الى امونيا مما يزيد النتروجين الذائب المعدنى الصالح للنباتات .

وعادة فأن المواد العضوية الطبيعية تحتوى على حوالى ٤٠ ٪ كربون ، وتعتبر النسبة الحرجة للنتروجين فى مثل هذه المادة ما بين ١ر٢ - ١ر٨ ٪ (C/N ratio 20-30 : 1)، فاذا كانت نسبة النتروجين فى المادة العضوية اقل من هذا المستوى الحرج فأنه تحدث عملية Immobilization اما اذا كانت مرتفعة عنها تحدث Mineralization ،ولتوضيح علاقة C/N ratio بوضوح أكثر ، فأنه من المعروف أن الفطريات عند تحليلها للمواد العضوية فأنها تمثل مابين ٢٠ - ٥٠ ٪ بمتوسط ٣٥ ٪ من كربون المادة العضوية فى اجسامها

والباقى يتحلل الى CO_2 , H_2O أو يبقى فى التربة فى تركيب الدبال . والبكتريا عند تحليلها للمواد العضوية تمثل من ١ - ٣٠ ٪ من كربون المادة العضوية بمتوسط ٧ ٪،وعلى ذلك فأن كلا المجموعتين (الفطر والبكتريا) عند تمثيلها لهذا الكربون تحتاج الى جزء من النتروجين لبناء اجسامها،فاذا فرض أن نسبة الكربون الى النتروجين فى داخل جسم الميكروب هى ١٠ - ١ فمعنى ذلك أنه يلزم ١ جزء من النتروجين لكل ١٠ جزء من الكربون يبنى فى خلايا الميكروبات .

واذا حرثنا مثلا ١٠٠ كجم مادة كربوايدراتية مثل السليولوز فى التربة (تحتوى على ٤٥ ٪ كربون) وقامت الفطريات بتحليلها ، فأن الفطريات تمثل من هذه المادة ٤٥ × ٣٥/١٠٠ = ١٥ر٧٥ كجم كربون ، وكمية النتروجين اللازمة لبناء خلايا الميكروبات = ١٥ر٧٥ × ١/١٠ = ١ر٥٧٥ كجم نتروجين ، أى أن تحلل ١٠٠ كجم سليولوز (خالى من النتروجين) بواسطة الفطريات يؤدى الى Immobilization لـ ١ر٥٧٥ كجم من النتروجين المعدنى الموجود فى التربة .

أما اذا حرثنا فى التربة ١٠٠ كجم برسيم بها ٤٠ ٪ كربون و ٢ر٥ نتروجين ، فأننا نجد أن الفطر يمثل من كربون المادة المضافة ٤٠ × ٣٥ / ١٠ = ١٤ كجم كربون ، وهذا يحتاج من النتروجين الى ١٤ ×١/ ١٠ = ١ر٤ كجم نتروجين ، وبما أن المادة العضوية تحتوى على ٢ر٥ كجم نتروجين،يحدث معدنة Mineralization (١ر١ كجم نتروجين) .

ويجب أن نلاحظ أن النقص فى النتروجين المعدنى فى التربة نتيجة الـ Immobilization نقص مؤقت حيث أن الميكروبات لا تلبث أن تموت وتتحلل . ولذلك فأنه عند استخدام مادة عضوية فقيرة فى النتروجين فأنه يجب اضافتها للتربة قبل الزراعة بفترة كافية،حتى لاتعانى النباتات النامية نقصا فى النتروجين الميسر .

ب - عملية التأزت (النترتة) NITRIFICATION :

بالرغم من أن عملية اكسدة الامونيا الى نترات فى التربة قد عرفت من زمن طويل،الا أن معرفة العوامل البيولوجية التي تؤدى الى حدوثها لم يمكن معرفتها الا منذ زمن قريب ، فمن المعروف أنه حدث فى عصر نابليون بونابرت فى فرنسا نقص فى كميات النترات اللازمة لصناعة البارود اللازم لبنادق الجيش ، ولقد لجأ علماء هذا العصر الى استخدام التربة لانتاج النترات،حيث كانوا يصنعون اكواما من التربة المخلوطة بالسماد والجير ثم ترطب وبعد مدة يستخلص منها النترات ، وفى هذا الوقت فسر تكوين النترات على اساس كيماوى، حيث اعتبر أن الامونيا المتكونة من تحلل السماد تتفاعل مع الاكسوجين الجوى فى وجود التربة كعامل مساعد كيماوى، وينتج عن هذا التفاعل النترات .

وفيما بعد فسر باستير التفاعل السابق على اساس أنه عملية ميكروبيولوجية وانها تشبه تحول الكحول بالاكسدة الميكروبيولوجية الى خل . ولكن فهم دور الميكروبات فى اكسدة الامونيا الى نترات لم يكتمل الا بعد ان عزل Winogradsky* سنة ١٨٩٠ بكتريا التأزت .

وعملية التأزت أو النترتة تتم باكسدة الامونيا المتكونة بالتربة اثناء عملية تحلل المادة العضوية النتروجينية الى نتريت Nitrite (Nitrosofication) ثم الى نترات، بواسطة مجموعة متخصصة من الميكروبات تسمى بكتريا التأزت Nitrifying bacteria، ويطلق على هذه العملية اسم عملية التأزت (النترتة) Nitrification،والعملية تتم على مرحلتين اولهما اكسدة الامونيا الى نيتريت Nitrite بواسطة ميكروبات اهمها Nitrosomonas كما يلى :

$$2\ NH_3 + 3\ O_2 \longrightarrow 2\ HNO_2 + 2\ H_2O + Energy$$

ثم يقوم Nitrobacter بالخطوة التالية :

$$2\ HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2\ HNO_3 + Energy$$

والميكروبات التى تقوم بالخطوتين السابقتين بكتريا اوتوتروفية هوائية تحصل على الطاقة اللازمة لها من عملية الاكسدة المذكورة فقط .

وعموما فان عملية التأزت يمكن أن تحدث على خطوات كما يلى :

طبقا لما ذكر (Klyver and Donker)* .

$$\underset{\text{ammonia}}{NH_3} \longrightarrow \underset{\text{hydroxylamine}}{NH_2OH} \longrightarrow \underset{\text{hyponitrous acid}}{N_2H_2O_2} \longrightarrow \underset{\text{Nitrous acid}}{HNO_2} \longrightarrow \underset{\text{Nitric acid}}{HNO_3}$$

---

* c.a. Alexander, 1982.

الميكروبات التي تقوم بعملية النترتة :

١) الميكروبات الاوتوتروفية :

وضعت بكتريا النترتة في تقسيم برجي عام ١٩٨٤ في مجموعة البكتريا ذات الصفات غير العادية Bacteria with unusual properties حيث ضمت في عائلة واحدة هي عائلة Nitrobacteriaceae . هذه العائلة تضم أنواعا بينها اختلاف واسع في الشكل المورفولوجي ، فمنها العصوى والكروى والحلزوني ، ومنها غير المتحرك والمتحرك بسوط واحد قريب من الطرف subpolar أو بأسواط موزعة بانتظام على محيط الخلية Peritrichous ، غير انها تشترك جميعها في أنها سالبة لصبغة جرام ، لا تكون جراثيم داخلية ، ذاتية التغذية ، تحصل على الطاقة من اكسدة الامونيا أو النتريت ، غير قادرة على المعيشة على المواد العضوية فيما عدا نوع واحد وهو *Nitrobacter winogradskyi* .

وبكتريا النترتة (التأزت) جميعها ميكروبات هوائية حتما ، غير طفيلية ، توجد في التربة وفي المياه ومياه البحار .

وتقسم افراد هذه العائلة الى مجموعتين رئيسيتين :

١ - مجموعة تؤكسد الامونيا الى نيتريت ، وهي تضم عدة أجناس تبدأ جميعها بالمقطع Nitroso- ، وهذه الاجناس هي :

Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosolobus, Nitrosovibrio.

ومن أهم انواع الميكروب الاول :

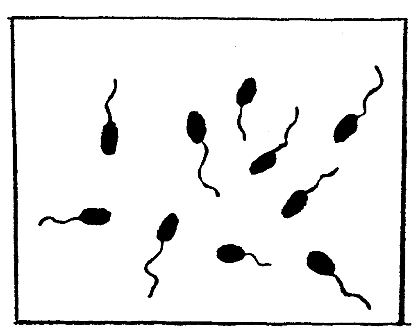
Nitrosomonas monocella, N. europaea

٢ - مجموعة تؤكسد النيتريت الى نترات ، وهي تضم ثلاثة أجناس تبدأ جميعها بالمقطع Nitro- ، وهذه الاجناس هي :

Nitrobacter, Nitrococcus, Nitrospira.

وأهم الاجناس السابقة شيوعا بالاراضي هما جنسي : Nitrosomonas, Nitrobacter وهما الميكروبان الرئيسيان في عملية النترتة Nitrification . والنيتروباكتر عصوية الشكل يوجد منها نوعين هما :

Nitrobacter agilis & *Nitrobacter winogradskyi*



شكل رقم (٥-٣) : نيتروزوموناس .

ولقد وجد كثير من الباحثين ان الاراضى المصرية تحتوى على اعداد كبيرة من بكتريا التأزت ، فوجد أن الاراضى الخصبة تحتوى على بضعة ملايين فى الجرام الواحد ، بينما تحتوى الاراضى القلوية والرملية المستصلحة على اعداد اقل ، اما ريزوسفير النباتات الصحراوية النامية بهذه الاراضى فوجد به اعداد كبيرة من هذه البكتريا ، بينما كانت الاراضى الرملية البكر خالية منها .

٢) الميكروبات الهيتروتروفية :

بالرغم من أن عملية التأزت تتم اساسا بواسطة الميكروبات الاوتوتروفية السابقة الذكر لكن لوحظ ان عملية اكسدة الامونيا الى نترات يمكن ان تقوم بها بعض الميكروبات الهيتروتروفية ايضا ، ولكن هذه الميكروبات بالطبع لاتستخدم عملية الاكسدة كمصدر رئيسى للطاقة حيث انها ميكروبات هيتروتروفية تحصل على الطاقة من المركبات العضوية .

ولقد اثبتت مختلف الدراسات ان الميكروبات الهيتروتروفية المؤكسدة للامونيا واسعة الانتشار فى التربة،وان هذه الميكروبات تستطيع النمو على بيئة بسيطة التركيب نوعا تحتوى على مصدر عضوى للكربون واملاح الامونيوم . لقد لوحظ ان عديد من انواع هذه الميكروبات لاتستطيع اكسدة النيتريت الى نترات كما ان كمية النيتريت المتكونة ضئيلة جدا مقارنة مع الكميات التى تكونها الـ Nitrosomonas . ومن ناحية اخرى ، فقد لوحظ ان بعض الفطريات قادرة على اكسدة النيتريت الى نترات ، ولقد وجد انه من الممكن اكسدة الامونيا الى نترات هيتروتروفيا لو وجدت مجموعتين من الميكروبات احدهما تؤكسد الامونيا الى نتريت والاخرى تؤكسد النتريت الى نترات .

ولقد كان من الملاحظات الهامة ان قليل من انواع البكتريا مثل سلالات من Arthrobacter وايضا بعض الفطريات مثل *Aspergillus flavus* يمكنها في المزارع النقية اكسدة الامونيا الى نترات . لقد اثبتت الدراسات ان اكسدة المركبات النتروجينية بواسطة الميكروبات الهيتروتروفية ليست محدودة في اكسدة المركبات المعدنية كالامونيا والنيتريت ولكن هذه الميكروبات تستطيع اكسدة النتروجين الموجود في بعض المركبات العضوية ايضا،ومن الصعب تقييم دور عملية التأزت الهيتروتروفية في الاراضي حتى الوقت الحالي . ومع ذلك فقد يكون لها اهمية خاصة في بعض الاراضي الزراعية،فقد لوحظ ان بعض الاراضي بالرغم من قلة اعداد الميكروبات الاوتوتروفية فيها،فأن النترات تتكون فيها بكميات لا بأس بها كما لوحظ ايضا تكون النترات في درجات حرارة عالية لا تسمح بنمو الميكروبات الاوتوتروفية . ونظرا لعدم وجود مقاييس مباشرة لمقدار عملية التأزت الهيتروتروفية ، لذلك فأن الافتراض بأن الدور الاساسي في عملية التأزت يرجع للميكروبات الاوتوتروفية لا يزال قائما .

العوامل التي تؤثر على ميكروبات التأزت :

نظرا لان عملية التأزت تقوم بها مجموعة محدودة من الميكروبات شديدة التخصص ، فمن المتوقع ان يكون تأثير العوامل البيئية عليها واضحا وشديدا ، وذلك بعكس العمليات البيولوجية التي تتم بواسطة مجموعة واسعة من الميكروبات مثل عملية النشدرة ، فانها نادرا ماتتوقف على تغيير الظروف طالما بقيت هذه الظروف حول الحدود المعقولة .

١) **الرقم الايدروجيني** : تعتبر الحموضة من أهم العوامل البيئية التي تؤثر على عملية التأزت فقد وجد ان الحموضة المناسبة لنمو هذه الميكروبات بين رقم ايدروجيني ٧-٩ ، بل وجد ايضا نشاط لهذه الميكروبات في ظروف اكثر قلوية .

وتقل فاعلية الميكروبات بدرجة ملحوظة عندما يقل الرقم الايدروجيني عن ٦ ، ويصبح غير محسوس عند رقم أقل من ٥ ، واضافة الجير لهذه الاراضي يكون له اثره على ميكروبات التأزت . بل أنه قد تحدث عملية اكسدة الامونيا الى نترات في بعض الاراضي الحامضية لاول مرة نتيجة لاضافة الجير لها .

٢) **الاكسجين** : من المعروف ان الميكروبات الاوتوتروفية التي تقوم بعملية التأزت هوائية حتما ويقف عملها تماما عندما يكون الوسط لا هوائي ،ولذلك فتهوية الارض مفيدة لهذه الميكروبات (العزق والحرث) .

٣) **الرطوبة** : التنفس والنمو والتمثيل لهذه الميكروبات يكون مثاليا في درجة رطوبة حوالي ٥٠٪ من قدرة احتفاظ التربة بالماء WHC ووجود كمية كبيرة من الماء يجعل الوسط لا هوائيا وضارا بها . وكقاعدة لا تتكون النترات في التربة الجافة .

٤) **اضافة املاح الامونيوم** : يحتاج ميكروب النتروزوموناس الى املاح الامونيوم حيث يؤكسدها الى نيتريت ثم يؤكسدها ميكروب النتروباكتر الى نترات ، وفى حالة نقص هذه الاملاح يتوقف النتروزوموناس عن النمو وبالتالى النتروباكتر . ومصدر الامونيا فى التربة اما يأتى عن طريق الاضافة (اسمدة املاح الامونيوم) او عن طريق عملية النشدرة اى من عملية معدنة المواد العضوية الازوتية وفى الظروف العادية لا تتراكم املاح النتريت فى التربة العادية،وعادة لاتضاف املاح النيتريت كسماد لان الكثير منها سام للنباتات والميكروبات .

وقد يتراكم النيتريت تحت بعض الظروف كما فى الاراضى المائلة للقلوية . وتبين كثير من النتائج ان النيتريت يتراكم بالاراضى لعاملين : القلوية والمستوى العالى للامونيوم . ويكون التراكم فى الاراضى الجيرية متناسبا مع معدل اضافة املاح الامونيوم واثناء تحلل المواد البروتينية واليوريا فأن الامونيا الناتجة قد تكون عالية بدرجة تؤدى الى احباط التحول الى نترات بطريقة مشابهة ، وقد يختفى التأثير المثبط بعد ذلك نتيجة للانخفاض فى مستوى الامونيا مع تقدم عملية التأزت . ويعزى تراكم النيتريت الى الحساسية الملحوظة لمجموعة النتروباكتر للامونيا تحت الظروف القلوية . والتأثير السام لا يرجع الى كاتيون الامونيا ، ولكن الى الامونيا الحرة والتى يشجع وجودها الرقم الايدروجينى الاعلى من ٧ .

٥) **الحرارة** : درجة الحرارة المثلى لهذه الميكروبات فى المعمل والتربة مابين ٣٠ - ٣٥°م ، ونادرا مايحدث تكوين نترات بطريقة محسوسة على درجة حرارة اعلى من ٤٠°م وتجرى عملية التأزت ببطء على درجة حرارة ٢°م .

٦) **المادة العضوية** : من المعروف ان هذه الميكروبات اوتوتروفية حتما ولاتستطيع النمو فى بيئات تحتوى على مادة عضوية ، وقد اجريت دراسات عديدة لتعليل نموها فى التربة الغنية بالمواد العضوية ، وعدم مقدرتها للنمو فى بيئات تحتوى على مواد عضوية ، ومن المقترحات لتعليل ذلك وجود مايسمى بتبادل المنفعة بين الميكروبات الاوتوتروفية والهيتروتروفية فى التربة . وايضا لان التربة وسط غير متجانس لا يكون فيها توزيع المادة العضوية منتظما يهيىء وجود اماكن تسمح بنمو هذه الميكروبات .

٧) **المناخ الجغرافى** : يؤثر المناخ الجغرافى والموسمى تأثيرا كبيرا على بكتريا التأزت ، لما له من تأثير على درجات حرارة ورطوبة التربة . ويختلف الفصل الملائم لنشاط هذه المجموعة باختلاف المنطقة المناخية ، ففى البلاد الباردة ينخفض النشاط بشدة فى فصل الشتاء ، ويزداد فى الربيع والصيف حيث الدفء وتوفر الامطار . ومن ناحية اخرى ففى البلاد الحارة مثل مصر يكون النشاط فى الشتاء والربيع عاليا حيث درجات الحرارة والرطوبة تلائم نشاط هذه المجموعة .

٨) **العمق** : هذا عامل ثانوى ، وعموما يكون النشاط اكثر فى الطبقات السطحية من التربة ، وفى احوال نادرة يكون النشاط اكثر فى طبقة تحت التربة .

وقد وجد احد الباحثين ميكروبات التأزت بكميات كبيرة على عمق اكثر من ٨ اقدام ، ومن ناحية اخرى فانه لم يعثر على ميكروبات التأزت أو النترات فى الطبقات السفلى B horizon .

٩) **المواد المانعة** Inhibitors : اجريت دراسات عديدة على تأثير المواد المانعة على ميكروبات التأزت نظرا لكونها أوتوتروفية وسهولة قياس نموها ونشاطها لاهميتها فى دورة الازوت ، ولحساسيتها الزائدة للمواد السامة . وقد اجريت دراسات عديدة فى الستينات لايجاد مادة كيماوية غير سامة ، تؤثر فقط على ميكروبات التأزت لتلافى فقد الازوت بعد التسميد الازوتى،او بمعنى آخر لحفظ الازوت على هيئة مختزلة (بدون اكسدتها الى نترات) فترة اطول حتى لا يتعرض للفقد ، وقد وجد ان مادة 2-chloro-6 (trichloromethyl) pyridine،(Nitrapyrin/N-serve) من انجح المواد الكيماوية لتأخير عملية التأزت .

١٠) **تأثير النبات المزروع** : لقى هذا الموضوع اهتمام كثير من الباحثين . ولقد وجد ان عينات التربة المأخوذة عن حقل مزروع برسيم كان نشاط ميكروبات التأزت بها اكبر من عينات تربة مأخوذة من حقل مزروع Timothy،ولقد وجد من جهة اخرى انه لا يوجد فروق معنوية بين معدلات التأزت من تربة متروكة بور ومن تربة محيطة بجذور نباتات معينة . ولقد وجد ان معدل التأزت فى الاراضى المنزرعة حشائش منخفض ، وربما يعزى هذا الى أن جذور الحشائش تفرز موادا لها تأثير سام على ميكروبات التأزت .

البيئة المناسبة لتنمية ميكروبات عملية تكوين الازوتيت فى المعمل :

تستطيع هذه الميكروبات النمو فى المعمل على البيئة المتكونة من ١٪ كبريتات الامونيوم علاوة على الاملاح اللازمة لنموها + كربونات الكالسيوم أو كربونات المغنسيوم ، وهذه تعمل على معادلة الحمض الناتج وتجعل البيئة تميل للقلوية الخفيفة أى ٧٫٢ pH .

البيئة المناسبة لتنمية النتروباكتر فى المعمل :

تتركب البيئة من ١٪ من املاح النتريت والاملاح المختلفة اللازمة لنموها مع تعديل البيئة الى القلوية قليلا .

وفى كلتا الحالتين لابد من زراعة الميكروبات تحت الشروط الهوائية على درجة ٢٥° – ٣٠°م . واحيانا تستخدم السليكا الغرورية $SiO_2 \cdot nH_2O$ لعزل هذه الميكروبات من التربة لتفادى استعمال الآجار وهو مادة عضوية .

عملية التأزت غير البيولوجية :

يمكن للامونيا أن تتأكسد الى حمض نتريك كما يلى :

$$NH_3 + \frac{3}{2} O_2 \longrightarrow HNO_3 + 2H^+$$

وذلك على درجة حرارة عالية مع استعمال بعض العوامل المساعدة مثل الاكسدة الالكتروليتية Electrolytic oxidation للامونيا فى وجود Copper oxyhydrate ويمكن ان تحدث ايضا بكميات قليلة اذا كان الجو مشبعا بالامونيا مع وجود ايدروكسيد الحديديك . ويمكن للامونيا أن تتأكسد الى حمض نتريك بواسطة الآشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation وقد تمكن (Weber & Weith)* من اكسدة الامونيا بواسطة الاوزون وكذلك H_2O_2 الى حمض نتريك كما يلى :

$$2\ NH_3 + 4\ O_3 \longrightarrow NH_4NO_2 + H_2O_2 + 4\ O_2$$

$$NH_4NO_2 + H_2O_2 \longrightarrow NH_4NO_3 + H_2O$$

ولقد وجد العلماء الهنود ان اكسدة الامونيا وكذا املاح الامونيوم يمكن حدوثها بالتربة الزراعية بواسطة ضوء الشمس فى وجود عامل مساعد Auto-sensitizing substance مثل اكسيد الزنك واكسيد التيتانيوم (ZnO, TiO) وهاتين المادتين من انشط المواد لايجاد هذا التفاعل . والقلوية تساعد على هذه الاكسدة ايضا ، بينما الحموضة لاتساعد عليها . ويقال ان هذا التفاعل يحدث بالاراضى الاستوائية ، ولقد ذكر حدوث هذه العملية فى مياه البحار . وعموما يعتبر اكسدة الامونيا الى نترات بيولوجيا هى العملية الرئيسية فى التربة الزراعية .

النواحى الضارة لعملية التأزت :

المعروف ان عملية التأزت ينظر اليها على انها عملية ذات فائدة كبيرة للنبات النامى حيث ان ايون النترات المتكون يمتص بسهولة كبيرة بواسطة النباتات النامية . ولكن فى السنين الاخيرة ظهرت جملة آراء تعتبر ان الاكسدة السريعة لاملاح الامونيوم سواء الناتجة من تحلل المادة العضوية أو المضافة كسماد امونيوى ذات اضرار لايمكن اغفالها ، ولعل الاسباب الرئيسية التى عززت هذا الاعتقاد تتلخص فى الآتى :

١) املاح النترات المتكونة كلها سريعة الذوبان مما يجعل فقدها عن طريق الرشح فى التربة خسارة كبيرة للنتروجين فى الارض وذلك على العكس من ايون الامونيوم فأنه يدمص على غرويات التربة ، مما يحفظه من الغسيل .

٢) املاح النترات تتعرض لعمليات الاختزال مما يؤدى الى فقد جزء كبير من العنصر السمادى الهام والاختزال يتم بشدة تحت الظروف اللاهوائية ، وقد يحدث فى التربة جيدة التهوية فى المسام الضيقة او عند وجود نسبة عالية من المادة العضوية التى

---

* c.a. Waksman, 1952.

يتم استهلاك الاكسوجين فى اكسدتها . وذلك على العكس فأن املاح الامونيوم لا يمكن ان يحدث لها اختزال .

٣) فى السنين الاخيرة وجه العلماء المهتمين بتلوث البيئة الاهتمام الى الاضرار البليغة التى يتعرض لها العالم من تأثير نواتج اختزال النترات . ويقال ان اكاسيد النتروجين التى تنتج بكميات كبيرة من اختزال النترات خصوصا بعد الزيادة الكبيرة فى معدلات التسميد فى العالم يمكن ان تتفاعل مع طبقة الاوزون المحيطة بالكرة الارضية وتحطمها ، والمعروف ان هذه الطبقة تحمى الكرة الارضية من الآشعة فوق البنفسجية الموجودة فى ضوء الشمس فلا يصل الى الارض الا كميات ضئيلة ، وفى النطاق التى تحتاجه وتتحمله الاحياء وتحطيم هذه الطبقة سوف يكون له آثار وخيمة على الاحياء .

٤) النترات نفسها اصبح ينظر اليها على انها احد مصادر التلوث الهامة فى المياه والاراضى .

التلوث بالنترات : Nitrate pollution

بالرغم من اهمية النترات كأحد مصادر النتروجين الهامة فى تغذية النبات الا ان علماء الميكروبيولوجيا وعلماء تلوث البيئة اصبحوا ينظرون بقلق الى تأثير مستوى النترات فى التربة على الوسط المحيط بها وعلى النباتات التى تعيش فى هذه التربة .

ولقد زادت معدلات التسميد زيادة كبيرة فى السنين الاخيرة وخصوصا التسميد النتروجينى، والمعروف ان مختلف الاسمدة النتروجينية سواء المعدنية او العضوية مصيرها النهائى ان تتحول الى نترات خلال عملية التأزت . والنترات المتكونة يغسل جزء كبير منها من التربة وتصل الى الماء الارضى ومنه الى الابار المستخدمة لشرب الانسان والحيوان او تصل الى الانهار والبحيرات . ووجود النترات فى مياه شرب الانسان والحيوان وجد ان لها اثارا خطيرة فهى تسبب امراضا للاطفال والحيوانات المجترة يطلق عليها methemoglobinemia ، وهذا المرض يسبب نسبة كبيرة من الوفيات للاطفال والحيوانات بينما يتحمل الانسان البالغ وجود النترات فى المياه . ويحدث هذا المرض عندما يتعاطى الطفل او الحيوان مياه بها نسبة عالية من النترات او يأكل طعاما به نسبة عالية من النترات اكثر من ١٠ جزء فى المليون ، وفى هذه الحالة تختزل النترات فى الامعاء الى Nitrite والاخير يمتص فى مجرى الدم ثم يتحد مع الهيموجلوبين ويحوله الى methemoglobin ويصبح الدم غير قادر على حمل الاكسوجين خلال عملية التنفس .

وكما سبق ان ذكرنا تصل النترات الى مياه الشرب عن طريق تسربها من التربة ، اما من ناحية وصولها الى الطعام فلقد وجد ان بعض النباتات يمكنها اذا نمت فى تربة غنية

بالنترات ان تخزنها بكميات كبيرة ، ومن امثلة هذه النباتات الذرة والذرة الرفيعة وحشيشة السودان والسبانخ والخس ، وبذلك فان تغذية الاطفال او الحيوانات على مثل هـــذه النباتات قد يؤدى لحدوث المرض ، ولقد اثبتت الدراسات حدوث حالات نفوق كثـــيرة للحيوانات نتيجة لذلك .

ومن الآثار السيئة ايضا لتكون النترات خلال عملية التأزت ان الكميات التى تتسرب مـــن التربة بالغسيل وتصل الى مياه البحيرات العذبة (خصوصا فى اوروبا) والانهار والمصارف يزيد من نمو النباتات وتؤدى الى نمو كثيف للطحالب على سطح المياه مما يؤثر على طعـــم المياه وقيمة البحيرات السياحية ، كما ان موت الطحالب وتحللها يقلل الاكسوجين الذائـــب فى المياه ويقتل الاسماك .

ومن الآثار السيئة المحتملة لعملية التأزت هو تكون النتروزأمين $\genfrac{}{}{0pt}{}{R}{R}\!>N-N = O$ Nitrosamines ، وهذه المركبات تتكون من اتحاد النتريت (سواء المتكون من اكســـدة الامونيا او اختزال النيترات) مع بعض نواتج تحلل المبيدات وهذه المركبات اتضح انهـــا تسبب السرطان كما انها مطفرة للخلايا .

ثانيا : فقد النتروجين من التربة : NITROGEN LOSS FROM SOIL

هناك جملة عمليات بواسطتها يفقد النتروجين من التربة ، تشمل الآتي :

١) **فقد بيولوجي** : يحدث نتيجة عمليات الاختزال وانطلاق النتروجين ، وتمثيل النتروجين في النباتات والميكروبات وفي بعض هذه الحالات يكون الفقد موقتا .

٢) **فقد غير بيولوجي** ؛ كالفقد الكيماوي ، والفقد بالترشيح او الصرف والتطاير (NH_3)، كما قد تثبت الامونيا وذلك بأن تدخل في التركيب البنائي لبلورات معادن الطين Crystal lattice of clay minerals ، كما ان زيادة القلوية بالاراضي تساعد على تطاير الامونيا بكميات ملحوظة خصوصا عند الرقم الايدروجيني الاعلى من ٨ ، كما تساعد درجات الحرارة العالية على تشجيع التطاير ويهمنا هنا مناقشة الفقد البيولوجي فقط .

اختزال النترات وتحرير (انطلاق) النتروجين :

Nitrate reduction and denitrification

قد تختزل النترات في التربة الزراعية تحت الظروف غير الهوائية بواسطة انواع كثيرة من البكتريا الاوتوتروفية والهيتروتروفية وهذا يحدث بطريقتين :

١) اختزال النترات ، وهي تحدث كما يلي :

$$NO_3^- \longrightarrow NO_2^- \longrightarrow NH_4^+ \text{ (some times } N_2O \text{ or } NO)$$

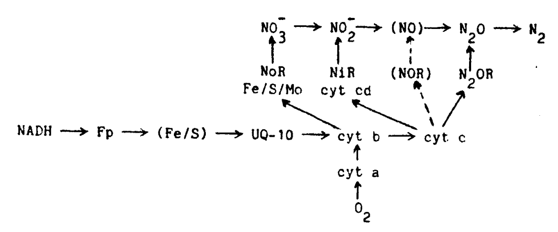
وهذه العملية يلاحظ انها عكس عملية التأزت تماما .

٢) تحرير او انطلاق النتروجين ، وفي هذه الحالة تختزل النترات الى نتروجين مطلق $NO_3^- \longrightarrow N_2$. ويمكن توضيح ميكانيكية حدوث اختزال النترات وانطلاق الازوت ، وتفسير تكون النواتج المختلفة كالآتي :

$$2\,HNO_3 \xrightarrow[-\,2H_2O]{+\,4\,H} 2\,HNO_2 \xrightarrow{+2\,H} \begin{cases} 2NO \xrightarrow[-\,H_2O]{+\,2\,H} N_2O \xrightarrow[-\,H_2O]{+\,2\,H} N_2 \\ ? \longrightarrow 2\,NH_2OH \longrightarrow 2\,NH_3 \end{cases}$$

وتتم هذه التفاعلات بمجموعة من الانزيمات تقع بالغشاء السيتوبلازمي للخلية ، فالانزيم الذي يقوم بالخطوة الاولى من التفاعل يسمى Nitrate reductase وهو يتطلب وجود الموليبدنم ليقوم بنشاطه،ثم يتم اختزال النتريت الى اكسيد النتريك (NO) بواسطة انزيم Nitrite reductase ، ثم يختزل اكسيد النتريك الى اكسيد نيتروز (N_2O) بواسطة انزيم يسمى Nitric oxide reductase ، ثم يختزل اكسيد النيتروز اخيرا بواسطة Nitrous oxide reductase الى غاز النيتروجين . اما من ناحية اختزال النترات الى امونيا فأنه بعد تكون النتريت Nitrite لم يمكن

توضيح الخطوات الوسطية التالية وان كان افترض تكون Hydroxylamine (NH_2OH) كناتج وسطى رئيسى ولكن ذلك غير مؤكد .



Proposed scheme for electron transport from NADH to nitrogen oxides via their respective reductases in *Paracoccus denitrificans*.

شكل رقم (٥-٤) : تصور مقترح لانتقال الاليكترونات من NADH الى اكاسيد النتروجين بواسطة الانزيمات المختزلة فى بكتريا باراكوكس .
(From Subba Rao, 1982)

وعمليتى اختزال النترات وانطلاق الازوت من الواضح انهما تقللان من مستوى النتروجين الميسر للنباتات فى التربة . وتحدث عملية الاختزال هذه تحت الظروف اللاهوائية مثل غمر التربة بالماء او عند وجود نسبة عالية من المواد العضوية القابلة للاكسدة فى التربة ، وفى هذا النوع من التنفس اللاهوائى تستخدم الميكروبات النترات فى عملية اكسدة المواد العضوية والمعدنية كمستقبل للالكترونات ، ونتيجة لذلك تختزل النترات . والظروف التى تساعد على حدوث العملية تتضمن الآتى :

١) سيادة الظروف اللاهوائية فى التربة حيث ان هذه العملية لا تحدث الا اذا كان مستوى التهوية غير كاف لاحتياج الميكروبات ، وليس معنى ذلك انه لابد ان تكون التربة مغمورة بالماء ، فلقد لوحظ حدوث عمليات اختزال النترات وانطلاق الازوت فى التربة جيدة التهوية وذلك لان تخلل الاكسوجين من مسام التربة لايتم بدرجة واحدة ، فنجد ان المسام الضيقة لايتم فيها تبادل الغازات بسهولة مما يساعد على سيادة الظروف اللاهوائية فيها .

٢) وجود نسبة عالية من المواد العضوية القابلة للاكسدة فى التربة لان وجود مثل هذه المواد يشجع النشاط الزائد لميكروبات التربة ، وبالتالى يؤدى الى استهلاك الاكسوجين مما يدفع الميكروبات الى استخدام النترات فى اكسدة المواد العضوية والمعدنية الموجودة فى التربة .

٣) درجة الرطوبة لها تأثير واضح على العملية لما لها من انعكاس على التهوية ، لذلك فان غمر الارض بالماء تزيد من اختزال النترات وانطلاق الازوت . ولهذا السبب فأن اراضى الارز لاتسمد بسماد نتراتى ولكن يفضل لها الاسمدة الامونيومية .

٤) درجة الحموضة : لوحظ ان كثيرا من ميكروبات اختزال النترات وانطلاق الازوت حساسة للحموضة ، ولذلك فأن اعداد هذه الميكروبات تكون قليلة فى الاراضى الحامضية وتزداد اعدادها ونشاطها فى الاراضى المتعادلة والمائلة للقلوية .

ودرجة الحموضة لاتؤثر فقط على معدل العملية ولكنها تؤثر ايضا على نوعية نواتج اختزال النترات ، فقد لوحظ زيادة N_2O عندما تكون الـ pH أقل من ٦ حيث يكون اكثر من ٥٠ ٪ من الغازات المتكونة فى الوسط الحامضى ، كما ان NO لاتتكون الا فى الوسط الحامضى ، اما فى الوسط المائل للتعادل فأن غاز النتروجين يكون هو السائد كناتج للاختزال ، وتقف العملية عند pH أقل من ٣٫٥ .

٥) الحرارة ، لها تأثير ايضا على عمليتى اختزال النترات وانطلاق الازوت ، فلقد وجد ان عملية اختزال النترات تكون بطيئة عند درجة حرارة ٢°م ، ثم تزداد بارتفاع الحرارة والدرجة المثلى اعلى قليلا من ٢٥°م ، وتستمر العملية سريعة حتى درجات حرارة تصل الى ٦٥°م وتتوقف تماما عند ٧٠°م ، ومعنى هذا ان الميكروبات الثرموفيلية لها دور فى عملية الاختزال .

الميكروبات التى تقوم باختزال النترات وانطلاق الازوت (بكتريا الدنترة) :

الميكروبات التى تقوم بعملية الاختزال ليست متخصصة فكثير منها تستطيع فى الظروف العادية تحليل البروتين واحداث عملية النشدرة وغيرها من العمليات الحيوية ، وكلها تقوم عند سيادة الظروف اللاهوائية بعمليات الاختزال للنترات . وعلى هذا فان وجود اعداد كبيرة من الميكروبات القادرة على اختزال النترات وانطلاق الازوت ليس معناه ان عملية الاختزال نشطة ما لم تتوفر الظروف الملائمة لحدوثها ، واهمها سيادة الظروف اللاهوائية وتوفر المواد القابلة للاكسدة ، ومتى توفرت هذه الظروف فان هذه الميكروبات تتحول الى عمليات الاختزال الضارة ، وهذه النقطة تخالف الوضع بالنسبة للميكروبات المتخصصة مثل بكتريا التأزت لان وجود مثل هذه الميكروبات باعداد كبيرة معناه ان عملية التأزت نشطة .

وعموما فقد وجد ان الاراضى الزراعية تحتوى على اعداد كبيرة من بكتريا اختزال النترات قـد تصل الى اكثر من مليون لكل جرام تربة ، وتكون اعداد هذه الميكروبات اكبر مايمكن حـــول جذور النباتات .

اما من ناحية انواع الميكروبات القادرة على احداث الاختزال فان هذه الخاصية لـــم تشاهد بين انواع الفطريات والاكتينومايسيتات . والبكـــتريا التى تقوم بهذه العملية تتضمن انواعا من اجناس عديدة مثل :

Pseudomonas, Bacillus licheniformis, Paracoccus
وعلاوة على انواع قليلة من اجناس *Hyphomicrobium, Alcaligenes,*
Chromobacterium, Corynebacterium, Serratia,
ويعتبر الميكروب *Thiobacillus denitrificans* مثلا للميكروبات الاوتوتروفيـــة القادرة على انطلاق الازوت فى التربة ، وعموما فأن الميكروبات القادرة على اختزال النـــترات وانطلاق الازوت كلها ميكروبات هوائية اختيارية حيث تستخدم الاكسجين الجوى فى الاكـــدة فى الظروف الطبيعية ، وعند غياب الاكسجين تقوم بالاكسدة عن طريق اختزال النترات .

وكما سبق ان ذكرنا فأن الميكروبات تقوم باختزال النترات بهدف اكسدة المواد العضوية والمعدنية للحصول على الطاقة تحت الظروف اللاهوائية ، ويمكن تمثيل التفاعلات الــــتى تحدثها الميكروبات كالآتى :

الميكروبات الهيتروتروفية :

$$C_6H_{12}O_6 + 12\ KNO_3 \xrightarrow[\text{reduction}]{\text{Nitrate}} 6H_2O + 6CO_2 + 12KNO_2 + \text{Energy}$$

$$5CH_3COOH + 8KNO_3 \xrightarrow[\text{fication}]{\text{denitri-}} 10\ CO_2 + 4\ N_2 + 6\ H_2O + 8\ KOH + \text{Energy}$$

الميكروبات الاوتوتروفية :

$$S + H_2O + 3\ KNO_3 \xrightarrow[\text{reduction}]{\text{Nitrate}} H_2SO_4 + 3\ KNO_2 + \text{Energy}$$

$$5S + 6KNO_3 + 2H_2O \xrightarrow[\text{fication}]{\text{Denitri-}} 4N_2 + K_2SO_4 + 4KHSO_4 + \text{Energy}$$

تقدير كمية الازوت المفقـود :

يمكن تقدير كمية الازوت المفقود فى عمليات الاختزال ، او انطلاق الازوت بطرق عديدة منها تقدير عدد البكتريا ، جهد الاكسدة والاختزال ، استخدام النتروجين المرقم $^{15}N_2$ ، أو بالتقدير المباشر للغازات الناتجة عن الاختزال (N_2-N_2O) .

وتعتبر طريقة تقدير N_2O بواسطة جهاز GLC من الطرق العملية الميسرة ، مـــع ملاحظة استخدام غاز الاستيلين C_2H_2 بنسبة ١ ٪ أثناء اجراء التقدير ، لوقف استمـــرار اختزال ن٢أ المتكون الى ن٢ .

علاقة اختزال النترات وانطلاق الازوت بتلوث البيئة :
Denitrification and environmental pollution

يترتب على عمليات انطلاق الازوت واختزال النترات اضرار اقتصادية وصحية ملموســة . فمن حيث الاضرار الاقتصادية فان حدوث هذه العمليات فى المنطقة المحيطة بجـــذور النباتات ، حيث تكثر هذه الميكروبات كما ذكر سابقا ، يقلل من مستوى النتروجين الميســر للنبات كما يؤدى الى فقد السماد النتروجينى من التربة بما يعادل ملايين الدولارات سنويا فى العالم .

أما من حيث الاضرار الصحية ، فأن من أهم الاضرار لعملية الاختزال التى ينظر اليها علماء البيئة بقلق بالغ هى تكون غازات N_2O, NO, NO_2 ، والمعروف ان هذه الغازات تكون جزء منها خلال حرق المواد البترولية فى الالات المختلفة والمصانع ، ولكن الكميات الـــتى تتكون فى الاراضى والبحار خلال عمليات الاختزال تعادل ١٥ ضعفا المتكون عن طريـــق الاحتراق .

والغازات الناتجة عن الاختزال تؤثر على طبقة الاوزون (O_3) الموجودة فى طبقــات الجو العليا والذى يحمى الارض من الآشعة فوق البنفسجية الموجودة فى آشعة الشمـــس ، حيث ان كمية الآشعة فوق البنفسجية فى ضوء الشمس عالية جدا ، ولو وصلت جميعها الـــى الارض لانعدم النمو النباتى بسبب تثبيطها لعملية التمثيل الكلوروفيللى ، ولاصيب جلـــد الانسان والحيوان بالسرطان ، ولكن وجود طبقة الاوزون O_3 يعتبر المانع الذى يحد مـــن وصول هذه الاشعاعات الى الارض . وقد اصبح قلق العلماء شديدا نتيجة للزيادة المطردة فى استخدام الاسمدة النتروجينية ، مما يزيد من مستوى النترات فى التربة ثم يلى ذلـــك عمليات الاختزال وتكون الغازات التى تتفاعل مع طبقة الاوزون كالاتى :

$$NO + O_3 \longrightarrow NO_2 + O_2$$
$$NO_2 + O_3 \longrightarrow NO + 2\,O_2$$

وبالاضافة الى تأثير اكاسيد النتروجين على طبقة الاوزون فى طبقات الجو العليا ، فأنه نتيجة للتسميد المعدنى الزائد والاستعمال المكثف للمبيدات ، فان هذه الاكاسيد تصــل للانسان والحيوان عن طريق مياه الشرب ، ومن تلوثات الخضر والفواكه واللحوم حيث تتحد مع الأمينات الموجودة بداخل الجسم وتتحول الى نيتروزأمين المسبب للسرطانات ، مسببـــة

بذلك اضرارا صحية بالغة لكل من الانسان والحيوان . وفى هذا الصدد فان الحد الاقصى المسموح به للانسان البالغ يوميا هو ٢٠ ملليجرام نترات ، ٥ ملليجرام نتريت لكل كجم وزن .

ومن التجارب البيولوجية التى تجرى الآن لمعالجة مياه الشرب ذات النسبة المرتفعة من النترات ، الحقن بميكروبات انطلاق الازوت لتحويل NO_3 الى N_2 .

تمثيل النترات واملاح الامونيوم فى خلايا الميكروبات :

يحدث لاملاح النترات والامونيوم المعدنية الموجودة فى التربة تحول الى الحالة العضوية، وذلك بأن تمثلها الميكروبات لبناء اجسامها، مما يقلل مستوى النتروجين الميسر للنباتات فى التربة، وتسمى هذه الحالة تمثيل املاح النتروجين فى اجسام الميكروبات ويحدث هذا التمثيل فى حالتين اساسيتين :

أ) فى حالة وجود كمية كبيرة من المواد العضوية الفقيرة فى الازوت لان الميكروبات تستعمل املاح الامونيوم والنترات الموجودة بالتربة لبناء اجسامها اثناء تحليل هذه المواد العضوية .

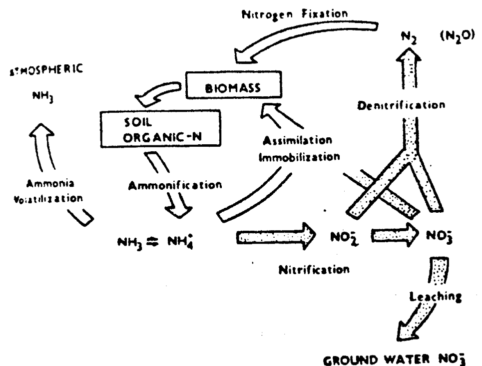
ب) بعض الميكروبات بسيطة التغذية اى انها تستطيع ان تكتفى باملاح الامونيوم كمصدر للنتروجين ، ومنها :

B. subtilis, B. megatherium, B. licheniformis, Enterobacter aerogenes

وكما سبق الاشارة فأن تمثيل النترات واملاح الامونيوم فى خلايا هذه الميكروبات مؤقت، لانه بعد موت هذه الميكروبات تتحلل الخلايا ، ويتحول مابها من نتروجين الى نتروجين معدنى ثانية .

ثالثا : تثبيط عملية التأزت : INHIBITION OF NITRIFICATION

كما سبق الاشارة ، فأن النترات الناتجة من عملية التأزت ، تتعرض الى الفقد نتيجة الترشيح وانطلاق الازوت واختزال النترات ، ولذلك فأنه للعمل على تلافى هذا الفقد وبالتالى لزيادة استفادة النبات من السماد النتروجينى ، يلجأ الى الابطاء من سرعة عملية التأزت أو حتى الى تثبيطها تماما . وبذلك يتم الاحتفاظ بمركبات النتروجين بحالة مختزلة (املاح أمونيوم) دون اكسدته الى نترات ومايتبع ذلك من اختزال أو انطلاق للازوت وتعرض للفقد .



The terrestrial nitrogen cycle showing the major microbiologically mediated pathways of nitrification, denitrification, ammonification, nitrogen fixation and immobilization. The shaded pathways are the ones affected by the inhibition of nitrification.

(From Subba Rao, 1982)

شكل رقم (٥-٥) : دورة النتروجين بالتربة (النشدرة ، النترتة ، انطلاق الازوت ، تثبيت وتمثيل الازوت) . الاجزاء المنقطة توضح الخطوات التى تتأثر بعملية تثبيط التأزت .

وتتم عملية تثبيط عملية التأزت بطرق عديدة منها مايتم بواسطة النباتات بما تفرزه جذورها من مواد عضوية كثيرة يعمل بعضها على تثبيط عملية التأزت مع تراكم الامونيا ، كما يحدث فى اراضى المراعى المنزرعة بالحشائش .

ومنها مايتم باضافة مواد كيماوية للتربة لتثبيط عملية التأزت ، ونعرف هذه المواد باسم المركبات الحافظة للنتروجين N-serve compounds ، ومن هذه المواد :

1. Nitrapyrin/N-serve : 2-chloro-6-(trichloro methyl)-pyridine.
2. ATC : 4-amino-1,2,4-triazole.
3. CL 1580: 2,4-diamino-6-trichloro methyl-S-triazine.
4. Di cyanidiamide.
5. Phenyl acetate.
6. Sodium or Potassium azide.

يشترط فى المواد المستعملة لعملية التثبيط أن لاتكون ضارة بميكروبات التربة أو النبات. وتعتبر مادة Nitrapyrin/N-serve من أكثر المواد الكيماوية التى جربت وأثبتت نجاحها فى تأخير عملية التأزت ، وأوضحت النتائج أنه عند اضافة هذه المادة بمعدل ١٠ ميكروجرام لكل جرام تربة ، فأنها تثبط عملية التأزت لـ ٢٠٠ ميكروجرام أمونيا مضافة لجرام تربة وذلك لمدة ١٤ يوما على درجة ٣٠°م ، كما جرب استعمالها فى الحقل باضافتها بمعدل ٣ - ٥ ٪ من السماد النتروجينى المضاف .

الاسس البيوكيميائية للتثبيط :

يثبط Nitrapyrin عملية اكسدة الامونيا الى نيتريت فى الخطوة الاولى من التفاعل التى يتأكسد فيها الامونيا الى هيدروكسيل أمين (تفاعل منتج للطاقة) ، ومن المعروف أن بكتريا النيتروزوموناس تستطيع أن تؤكسد كل من الامونيا والهيدروكسيل أمين ، ولكن فى وجود النيترابيرين فأن اكسدة الامونيا فقط هى التى تتم نتيجة تثبيط انزيم Ammonium oxidase الموجود بأغشية النيتروزوموناس

$$NH_4 + \frac{1}{2} O_2 \xrightarrow{-2e} NH_2OH + H^+ \quad (F = + 4 \text{ Kcal})$$
$$NH_2OH + O_2 \xrightarrow{-4e} NO_2^- + H_2O + H^+ \quad (F = -69 \text{ Kcal})$$

العوامل المؤثرة :

يتأثر عمل المثبطات بعوامل عديدة ، ففى الاراضى الثقيلة التى تحتوى على كثير من المواد العضوية ، يقل تأثير المثبطات ، وذلك لادمصاصها على المواد العضوية . وكلما زادت درجة حرارة التربة زاد سرعة تحللها وقل تأثيرها ، كما أن زيادة الرطوبة بالتربة تؤدى الى تسربها فى الأعماق .

أما من حيث تأثيرها على ميكروبات التربة وجذور النباتات فمازالت الآراء متضاربة ويحتاج الأمر للمزيد من البحوث فى هذه النواحى ، خاصة وأنه وجد أن بعض المثبطات لها تأثير سام على جذور بعض النباتات (Phytotoxic) مثل القطن وحشيشة المراعى .

٦- تثبيت نتروجين الجو فى التربة الزراعية
DINITROGEN FIXATION (DIAZOTROPHY)

مقدمة :

يتعرض نتروجين التربة الى فقد مستمر نتيجة لعمليات حيوية وغير حيوية ، منها الغسيل واختزال وانطلاق الازوت ، وكذلك ماتأخذه المحاصيل المختلفة ، وتتوقف خصوبة التربة وانتاجيتها على مقدار ما يعوض من هذا النقص باضافة الاسمدة النتروجينية المعدنية والعضوية وذلك بالاضافة الى ماتضيفه بعض اكاسيد الازوت المتكونة فى الجو بواسطة البرق والرعد، كذلك اشعاع UV فى الجو حيث يتحد النتروجين والايدروجين مكونا امونيا، الا ان كل هذا لا يعوض الا بنسبة ضئيلة من النتروجين الذى تفقده التربة . ولكن العامل الاساسى فى تعويض ما يفقد من التربة من هذا العنصر الاساسى هو تثبيت نتروجين الهواء الجوى حيويا .

تثبيت نتروجين الهواء الجوى فى التربة الزراعية :

Nitrogen fixation (Diazotrophy)

المقصود بعملية التثبيت الحيوى Biological fixation هو استخدام نتروجين الهواء الجوى بواسطة الميكروبات لبناء بروتوبلازم الخلايا الحية . والقدرة على التثبيت بيولوجيا موجودة فى عدد من ميكروبات بدائيات النواة Procaryota والتى تحتوى جميعها على الانزيم المثبت لنتروجين الهواء الجوى وهو النيتروجيناز حيث يقوم بالتفاعل الآتى :

$$N_2 + 3\,H_2 \xrightarrow{\text{Nitrogenase}} 2\,NH_3$$

والامونيا المثبتة داخل جسم الميكروب تمثل لبناء مواد بروتينية

$$NH_3 + (\text{glutamate}) \xrightarrow[\text{glutamic synthase}]{\text{glutamine synthetase}} \text{amino acids} \xrightarrow{\text{Bio synthesis}} \text{Protein}$$

وفى الطبيعة فأن عملية تثبيت النتروجين الجوى تلى عملية التمثيل الضوئى من حيث الاهمية لاستمرار الحياة على الارض . ويتم انتاج الامونيا فى عملية التثبيت البيولوجية على درجة الحرارة والضغط الجوى الموجود ، ولكن فى الطريقة الكيماوية الشائع استخدامها وهى طريقة Haber Bosch فان انتاج الامونيا باستخدام نتروجين الجو وايدروجين الغازات الطبيعية يتم فى وجود حرارة وضغط مرتفعين مع عوامل مساعدة حسب المعادلة :

$$N_2 + 3\,H_2 \xrightarrow[\text{500 °C at 250 atm.}]{\text{Ferric oxide}} 2\,NH_3$$

ونظرا للارتفاع الرهيب فى اسعار الانتاج فى السنوات الاخيرة ، فان الاتجاه الان هو محاولة الاستفادة الكاملة من عملية التثبيت البيولوجى للحد من استعمال الاسمدة المعدنية الأزوتية التى اصبحت اسعارها فى غير متناول اليد ، كما يسبب الافراط فى استعمالها تلوثا للمياه والاراضى .

ولبيان الاهمية الاقتصادية لعملية التثبيت البيولوجى فى محصول زراعى واحد مثل الفول البلدى ، فأنه بفرض ان عملية التثبيت توفر ٦٠ وحدة ازوت/فدان ، ثمنها ٣٠ جنيها فأن الوفر الناتج عن زراعة مليون فدان سيصبح ٣٠ مليون جنيه وينطبق القول على المحاصيل البقولية الاخرى ، ويتضح الاهمية الاقتصادية لعملية التثبيت عندمقارنة ثمن ١ كجمN بالسماد المعدنى بثمن ١ كجم N الناتج من استعمال الطحالب او الريزوبيا ، حيث يصل فى الحالة الاولى الى مايزيد عن خمسون قرشا ، بينما لا يزيد ثمنه فى الحالة الثانية عن خمسة قروش، ومن هنا يتضح الاهمية القصوى لعملية التثبيت البيولوجية ، وقد قدر (Hardy, Burns & Holston, 1973)* كمية النتروجين التى تثبتها الميكروبات من الهواء الجوى بما يقرب من ١٠٨ - ١٠٩ طن نتروجين فى السنة ويتم تكوينها فى التربة عن طريق دورة الازوت الحيوية Biological nitrogen cycle لتعوض مافقد من هذا العنصر الهام ، وطبقا للاحصائيات الحديثة فأن مايزيد عن ٩٠٪ من نتروجين التربة فى العالم يسترجع ثانية عن طريق عمليات التثبيت الحيوية Biological fixation بواسطة الميكروبات ، اما ما يثبت عن طريق غير الميكروبات فيقدر بحوالى ٠٫٥٪ بواسطة البرق وبحوالى ٥٪ بطريقة هابر/بوش .

ويمكن تقسيم الميكروبات المثبتة للنتروجين الجوى كما فى جدول رقم (٦-١) .

ويلاحظ ان كل تلك الكائنات تتبع البكتريا او الطحالب الخضراء المزرقة وهى كلها من نوع Procaryotes كما انها كلها محبة للحرارة المتوسطة .

* c.a. Alexander, 1982.

Table (6-1): Genera of N_2-fixing bacteria.

A. Free-living Diazotrophs

Heterotrophs

1. Aerobic.

Azotobacteriaceae
1. *Azotobacter*
2. *Azomonas*
3. *Azotococcus*
4. *Beijerinckia*
5. *Derxia*
6. *Xanthobacter*

2. Microaerobic.

a. Spirillaceae
1. *Azospirillum*
2. *Aquaspirillum*
3. *Campylobacter*

b. Rhizobiaceae
1. *Rhizobium*

3. Facultative.

a. Bacillaceae
1. *Bacillus*

b. Enterobacteriaceae
1. *Klebsiella*
2. *Enterobacter*
3. *Erwinia*
4. *Citrobacter*
5. *Escherichia*

4. Anaerobic.

Bacillaceae
1. *Clostridium*
2. *Desulfovibrio*
3. *Desulfotomaculum*

I. **Phototrophs**

A. Oxygenic, Blue-green algae.

a. Unicellular.
1. *Gloeocapsa*
2. *Synechococcus*
3. *Myxosarcina*

b. Filamentous, non-heterocystous.
1. *Spirulina*
2. *Oscillatoria*
3. *Pseudoanabaena*
4. *Lyngbya*
5. *Plectonema*
6. *Phormidium*

c. Filamentous and heterocystous.
1. *Anabaena*
2. *Nostoc*
3. *Aulosira*
4. *Calothrix*
5. *Tolypothrix*
6. *Scytonema*
7. *Fischerella*
8. *Westiellopsis*

B. Anoxygenic.

a. Rhodospirillaceae.
1. *Rhodospirillum*
2. *Rhodopseudomonas*
3. *Rhodomicrobium*
4. *Ectothiorhodospira*

b. Chromatiaceae.
1. *Chromatium*
2. *Thiocystis*
3. *Thiocapsa*
4. *Amoebabacter*

c. Chlorobiaceae.
1. *Chlorobium*

II. Chemosynthetic bacteria.

Thiobacteriaceae.
1. *Thiobacillus*

B. Symbiotic Diazotrophs

1. *Rhizobium* (nodules on legumes)
2. *Frankia* (nodules on non-legumes)

الميكروبات المثبتة لازوت الهواء الجـــوى
والعائشة منفردة فى التربة (اللاتكافلية)
FREE LIVING NITROGEN FIXING ORGANISMS IN SOIL

أولا : البكتريا الهيتروتروفية :-

البكتريا الهيتروتروفية المثبتة للازوت الجوى عديدة وسوف يناقش فقط أهمها :

أ) البكتريا الهوائية :

Family Azotobacteriaceae

وفيما يلى وضعها فى تقسيم برجى (١٩٧٤) .

١- الخلايا كروية كبيرة ، ومعظم الاجناس تفرز مواد لزجة خارج الخلية ، سريعـــة النمو ، موجبة لاختبار الكاتاليز .

١-١ - تكون حوصلة :

نسبة الجوانين و السيتوسين فى جزئ DNA ٦٣-٦٦٪

Azotobacter

١-٢ - لاتكون حوصلة :

نسبة الجوانين و السيتوسين فى جزئ DNA ٥٣-٥٩٪ Azomonas .

٢- الخلايا صغيرة تفرز مواد لزجة متماسكة أو صموغ بكمية كبيرة ، تحتوى على حبيبات دهنية بداخل الخلايا، بطيئة النمو ، موجبة أو سالبة لاختبار الكاتاليز .

٢-١ - حبيبات الدهن عديدة فى الخلية :

نسبة الجوانين والسيتوسين فى جزئ DNA ٧٠٪ ، سالبة لانزيـــم الكاتاليز Derxia .

٢-٢ - حبيبات الدهن فى قطبى الخلية :

نسبة الجوانين والسيتوسين فى جزئ DNA ٥٥-٥٩٪ موجبة لانزيـــم الكاتاليز Beijerinckia .

أما فى تقسيم برجى (١٩٨٤) فأن عائلة Azotobacteriaceae وضعت فـــى المجلد الاول الذى يضم البكتريا العادية السالبة لجرام ، وقد فصل جنســـــى Beijerinckia & Derxia عن هذه العائلة ووضعا ضمن الاجناس التى لم يحدد نسبها بعد لاى عائلة non-affiliated with any family .

١) الازوتوباكتر :- Azotobacter

تثبت هذه البكتريا نيتروجين الهواء الجوى هوائيا أى يشترط وجود الاكسوجين لنموها. ويوصف الازوتوباكتر بالاتى : الميكروبات كبيرة الحجم بالنسبة لميكروبات التربة الاخرى ويتراوح طولها من ٥-٧ ميكروميتر وعرضها بين ٣-٤ ميكرومتر ، وشكل الميكروب شبه كروى أو بيضى أو عصوى احيانا ، يوجد فرديا أو فى أزواج، وتحتوى خليته فى بعض الاحيان على جسم يشبه الفجوة ، ويكون عليه مخاطية ، وقد يرى الميكروب باشكال غير منتظمة . وفيما يلى التقسيم المقترح لانواع الازوتوباكتر (Bergey's manual, 1974) .

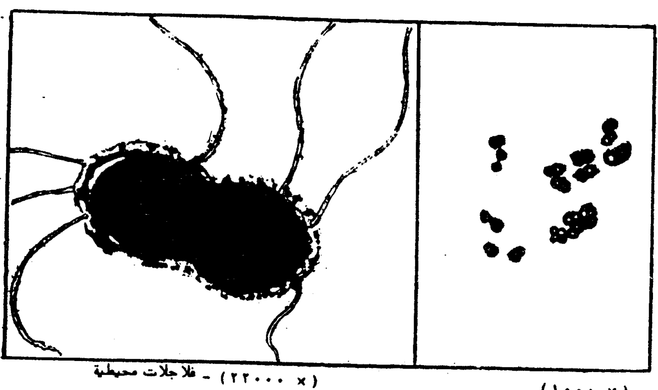
أ - متحرك ببطء أو غير متحرك - يكون صبغات صفراء أو بنية غامقة غير قابلة للذوبان بالبيئة يعيش اساسا بالتربة Typical soil inhabitant .

١) متحرك - الصبغة بنية فاتحة أو غامقة *Azotobacter chroococcum* .
٢) غير متحرك - الصبغة صفراء أو قد لايكون صبغة *Az. beijerinckii*.

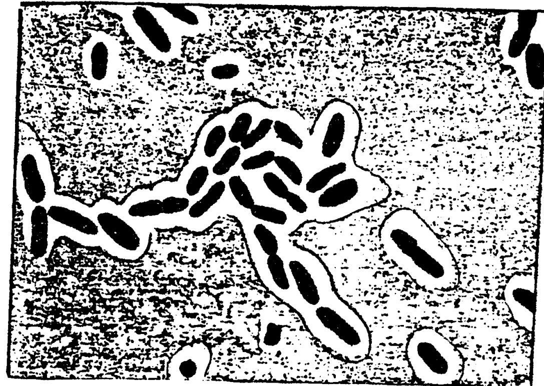
ب - متحركة بسرعة - تكون اصباغ خضراء مصفرة الى حمراء ارجوانية قابلة للذوبان فى البيئة وفى بعض الاحيان لاتكون اصباغا ويعيش اساسا بالمياه Typical water inhabitant

١) يحلل المانيتول والرامنوز Rhamnose *Az. vinelandii*
٢) لايحلل المانيتول او الرامنوز *Az. paspali*،عزلت من نباتات مراعى استوائية Paspalum بالبرازيل حيث وجد ان الميكروب يعيش معها ويثبت الازوت فى حالة تعاون ، كما أنه يفرز الكثير من منشطات النمو بدرجة اكبر من الازوتوباكتر ، ومنذ عام ١٩٨٢ أصبح هذا الميكروب يسمى *Azorhizophilus paspali*.

ولعزل ميكروب الازوتوباكتر تستعمل البيئة التى ركبها العالم بيجرنك Beijerinck وهى بيئة خالية من مركبات النتروجين ، وتحتوى على المانيتول او البروبيونات بدلا من الجلوكوز لان الاخير يساعد على نمو الميكروب اللاهوائى المسمى *Clostridium pasteurianum*، وتوضع البيئة فى طبقات غير عميقة فى أوعية واسعة وذلك لكى تعطى مساحة كبيرة تساعد على التهوية ، ثم تعقم بالبخار وتلقح بحوالى ١ر-٢ر جرام من التربة الخصبة ، ثم تحضن على درجة ٢٠-٣٠° م وبعد حوالى ٣ أيام تستعمل هذه فى تلقيح مزارع اخرى جديدة، حيث أن المزرعة الاولى محتوية عادة على ميكروبات اخرى كثيرة، لان الازوتوباكتر بعد نموها تفرز افرازات نتروجينية تساعد على نمو بعض ميكروبات التربة الزراعية، ثم يكرر هذا حوالى ٣ مرات الى ان نحصل على مزرعة تكاد تكون نقية من الازوتوباكتر وفى هذه الحالة غالبا مانحصل على ميكروب *Az. chroococcum* وهو النوع الذى يغلب وجوده فى معظم الاراضى ، كما يمكن عزل الازوتوباكتر ايضا باستعمال نفس البيئة باضافة ٢ ٪ اجار (بيئة صلبة) بطريقة التخطيط .



شكل رقم (٦-١) : خلايا ازوتوباكتر كروكوكام معزولة من اراضى مصرية .
(From FAO Soils Bull. No. 49, 1982).



Photomicrograph of *Azotobacter chroococcum*.
Each microbe is about 6 um long.

شكل رقم (٦-٢) : خلايا ازوتوباكتر كروكوكام .
(From Postgate, 1978).

والازوتوباكتر لا يستطيع أن يحلل السليلوز أو المواد العضوية المعقدة بالتربة الزراعية، لذلك فأنه كثيرا مايحصل على الطاقة اللازمة له بالمعيشة التعاونية مع ميكروبات التربة الاخرى التى تحلل هذه المواد ، وتنتج السكريات والاحماض العضوية وغيرهـا والتى تستعمل كمصدر للطاقة وتستطيع بذلك أن تثبت الازوت الجوى بالتربة .

ولقد وجد أن الازوتوباكتر يمكنه ان يثبت ١٨ ملليجرام ازوت لكل واحد جرام سكـر، والنتروجين يثبت فى اجسام الخلايا على هيئة بروتينات ، وكلما كان الوسط خاليا من املاح النتروجين (مثل املاح الامونيا والنترات) فأن التثبيت يكون أكثر والعكس صحيح ولكن لابد من توافر مصادر الطاقة اللازمة لها .

وعنصر الفوسفور مهم جدا للازوتوباكتر ، وكذلك درجة الحموضة لها تأثير كبير على نموه ، وانسب حموضة لنموه بين pH٦-٥ر٨ تقريبا ، ويلاحظ من ذلك أن الاراضى المتعادلة أو التى تميل قليلا الى القلوية ينتشر بها الازوتوباكتر على نطاق واسع وذلك بعكس الاراضى الحامضية حيث يكون انتشاره بها ضعيفا او معدوما . معظم انواع الازوتوباكتر تموت بسرعة فى الاراضى الحامضية نظرا لحساسيتها الشديدة للحموضة ، أما درجات الحرارة المناسبة لنمو ميكروب الازوتوباكتر فهى نفس درجات الحرارة التى تساعد على نمو المحاصيل ، وهـذه الميكروبات ميزوفيلية ، أى أن درجة الحرارة المثلى بين ٣٠ - ٣٥°م . ولا توجد تقديرات دقيقة لمقدار مايثبته الازوتوباكتر سنويا ، وتشير بعض التقديرات الى أنه يثبت من ٢ - ٣ كجم N /فدان سنويا ، ولكن هذه التقديرات اخذت من اراضى المناطق المعتدلة التى تتراوح اعداد الازوتوباكتر فيها بين بضعة مئات الى عدة آلاف بالجرام من التربة ، أما فى اراضى المناطق الحارة مثل اراضينا والتى فيها اعداد الازوتوباكتر قد تصل الى الملايين فى الجرام الواحد فمن المتوقع أن معدل التثبيت يكون اكثر من ذلك بكثير .

وتستطيع الازوتوباكتر ان تعيش معيشة تعاونية مع الطحالب الخضراء المزرقة وخاصة الطحلبين Nostoc, Anabaena ، وكذلك مع بعض الميكروبات الاخرى وذلك بأن تمد هذه الطحالب وكذا الميكروبات الاخرى بما تحتاجه من المواد الكربوهيدراتية ، ونتيجة لذلك فأن كمية النتروجين المثبتة تكون كبيرة ، كذلك يستطيع الازوتوباكتر أن يعيش معيشة تعاونية مع ميكروب *Cl. pasteurianum* ، وذلك بأن يقوم الازوتوباكتر بسحب الاكسوجين من الوسط المحيط ونتيجة لذلك تستطيع الكلوستريديم ان تنمو ، هذا ويستعمل الازوتوباكتر الاحماض العضوية التى تنتج عن الكلوستريديم بعد ان تعادلها قواعد التربة كمصدر للطاقة اللازمة لحياته .

انتشاره فى الاراضى :

ان انتشار الازوتوباكتر بالاراضى يتوقف على عدة عوامل اهمهـا :

١) حموضة التربة .
٢) توافر المواد العضوية التى تعتبر مصدر الطاقة له .
٣) تركيز بعض المعادن الهامة بها مثل الفوسفات .
٤) عدم وجود عوامل التضاد والتنافس التى تحد من انتشاره .

وهناك آراء متعارضة عن مدى انتشار هذا الميكروب بالاراضى ، فالبعض يعتقد انـــه ينتشر على مدى واسع بالتربة ، ولو انه يظهر باعداد ضئيلة بها ، فلقد وجد بعض الباحثين ان اعداده فى الجرام الواحد من التربة يبلغ ١٨ ميكروبا كما وجد Swaby* ان اعداده فـــى الجرام الواحد يبلغ حوالى ٣٠ خلية ، أما Rossi* فلقد وجد ان متوسط اعداده بالاراضـــى حوالى ١٨١٥ ميكروب للجرام الواحد ، وذكر بأن اعداده تتراوح من صفر - ٢١٤٠٠ ميكروب للجرام ، ولقد ذكر جبسون (١٩٥١)* ان اعداده بالاراضى مقدرا على اساس الجرام الواحد يقل عن عشرة ولا يزيد عن ١٠٠٠ ميكروب ، ولذا يعتقد الكثير من الباحثين فى قلة اهميتـــه بالاراضى ويعتقد ان اهمية الازوتوباكتر فى اراضى المناطق الباردة قد تكون ضئيلة ، ولكــن نجد انه فى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية له اهمية كبيرة فالابحاث تدل على أن اعداده فى الجرام الواحد حوالى المليون فى الاراضى المصرية، كما وجد ايضا باعداد كبيرة فـــــى الاراضى القلوية والرملية والمستصلحة وريزوسفير كثير من النباتات الحقلية والصحراوية . كمـا ثبت انه يستطيع ان يقاوم درجات الحرارة العالية بالاراضى .

الانواع البحرية والمحبة للملوحة من الازوتوباكتر قليلة ، ومع ذلك فقد عزلت انواع مثـل : *Az. miscellus*, *Az. halophillus* من البحر الاسود محبة للملوحة .

٢) الازوموناس Azomonas :

تتميز خلاياه بانها بيضاوية الشكل كبيرة الحجم، تكون مفردة او فى ازواج او فى تجمعات غير منتظمة، وانواعه غير متجرثمة ولا تكون كبسولة (وفى هذا تختلف عن الازوتوباكتر)، متحركـــة بفلاجات طرفية او محيطية Peritrichous ، سالب لجرام واحيانا يكون فى المـــــزارع القديمة Gram variable ، قد تفرز خلاياه او لا تفرز صبغات ذائبة فى الماء، والانواع التى يتضمنها هذا الجنس لا تكون حويصلات ولا تحلل البروتينات، هوائية تنمو فى درجات pH مابين ٤ - ٩، ومنه انواع توجد فى التربة الزراعية اساسا مثل *A. macrocytogenes*، الا ان منـه نوعين ينتشران فى المياه لا يكونان كابسول ومتحركين وهما *A. agilis* والحركة فيه بفلاجات عديدة ، *A. insignis* والحركة فيه بفلاجات عبارة عن خصلة فى الطرف . ويمتـــــاز الميكروب الاخير بأن له أعلى معامل تنفس RQ بين الميكروبات .

---

* c.a. Waksman, 1952.

٣) البيارنكيا Beijerinckia :

يرتبط جنس البيارنكيا ارتباطا وثيقا بجنس الازوتوباكتر ، حيث لا يختلف عنه الا فى بعض الصفات المورفولوجية ، فالاولى اصغر من الازوتوباكتر وهى عصوية تحتوى على اجسام دهنية فى طرفى الخلية،كما يمكن تمييزها عن الازوتوباكتر بكثرة افرازها للمواد السكرية المعقدة التركيب على البيئات الصناعية وهذه تعطى قوام هلامى لزج ، كما يمكن تمييزها ايضا بعدم احتياجها للكالسيوم الذى يحيط نموها . وتتحمل نطاق واسع من الحموضة (الرقم الايدروجينى للنمو من ٥ر٣ - ٩) ، وتتميز ايضا بأن مصادر الطاقة اللازمة لنموها محدودة وتنحصر فى بعض السكريات الاحادية والثنائية ، والجلسرين والمانيتول ، ولكن الكحولات البسيطة والاحماض العضوية من الصعب تمثيلها ، ولو ان معدل نموها اقل من الازوتوباكتر الا ان قدرتها على تثبيت النتروجين كبيرة فقد تصل الى حوالى ٢٠ ملليجرام نتروجين لكل جرام سكر . وهناك فرق واضح بينهما وبين الازوتوباكتر فى انتشارها الجغرافى فالازوتوباكتر ينتشر فى جميع بقاع العالم بالاراضى ذات الحموضة القريبة من التعادل والمحتوية على مصادر الطاقة بكمية وفيرة ، كما توجد فى مياه البحيرات والانهار والمياه المالحة المحتوية على الطحالب والاعشاب البحرية . اما البيارنكيا فتنتشر على نطاق واسع فى الاراضى الحامضية والمناطق الاستوائية ، ونادرا ما يلاحظ وجودها باراضى المناطق تحت الاستوائية بعكس الازوتوباكتر ولا يعرف على وجه التحديد السبب فى هذا ، اذ ان درجة الحرارة المثلى للجنسين تكاد تكون متساوية ، علاوة على ان البيارنكيا تستطيع ان تتحمل نطاق واسع من الحموضة فيمكن ان تعيش فى الاراضى ذات الحموضة العالية . ولقد عزلت سلالات منها من الهند واندونيسيا وبورما وامريكا الجنوبية واستراليا ، ومن المناطق الاستوائية فى افريقيا ، وقد لوحظ ان النباتات وحيدة الفلقة - خاصة قصب السكر - تشجع من تكاثرها فى منطقة الريزوسفير . ومن الانواع التابعة لهذا الجنس *B. indica*, *B. mobilis* .

دركسيا
Derxia
(From Taha & Mahmoud, 1966).

بيارنكيا
Beijerinckia
شكل رقم (٦-٣)

٤) الدركسيا Derxia :

عزل هذا الميكروب من الاراضى الهندية وسمى أولا *Azotobacter indicum* ثم اقترح بعض العلماء وضعه فى جنس ونوع مستقل وسموه *Derxia gummosa* ، وهــو يختلف مورفولوجيا عن الازوتوباكتر والبيارنكيا ، فخلاياه عصوية غير متجرثمة سالبة لصبغة جرام هوائية حتما ـ الخلايا المسنة تظهر بها فجوات عديدة ، يعيش فى رقم ايدروجينى من ٥ ـ ٩ ، وقد تصل كمية مايثبته من نتروجين الى ٢٥ ملليجرام لكل جرام سكر ممثل . والدركسيــا تشبه البيارنكيا فى ان لها كابسول سميك لزج ، وتتحرك بفلاجلام طرفى .

٥) الكلبيسيلا Klebsiella pneumoniae :

هذا الميكروب عصوى قصير سالب لجرام اختيارى من حيث الهواء ، وهو يتشابه فى كثــير من صفاته مع بكتريا القولون .

والميكروب له القدرة على تثبيت نتروجين الهواء الجوى تحت الظروف اللاهوائية . وقــد عزل الميكروب من العقد الورقية الموجودة بالنباتات الاستوائية ، كما عزل من على اسطــح نباتات كثيرة ومن الاراضى ومن منطقة الريزوسفير Rhizosphere لكثير من النباتات . كما ان اعدادا كبيرة منه توجد فى امعاء المواطنين الاصليين natives لسكان غينيا الجديدة الذى يتكون غذاءهم اساسا من البطاطا ، وان كان دوره فى امعاء هؤلاء المواطنين مــن حيث تثبيت النتروجين غير معروف تماما .

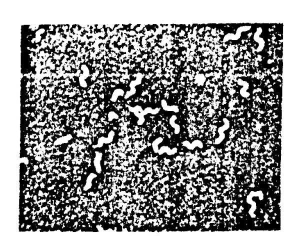
ويستخدم الميكروب لاجراء الدراسات الوراثية الخاصة بتثبيت النتروجين،حيث أنه يعتــبر ميكروب نموذجى من هذه النواحى وذلك لارتفاع محتواه من القواعد النتروجينية (جوانيــن وسيتوزين) فى الـ DNA ولتعدد المصادر النتروجينية التى يمكن ان يستخدمها وكذلــك لامكان عمل طفرات عديدة مناسبة منه ولسهولة نقل العوامل الوراثية اليه .

٦) الازوسبيريلام Azospirillum :

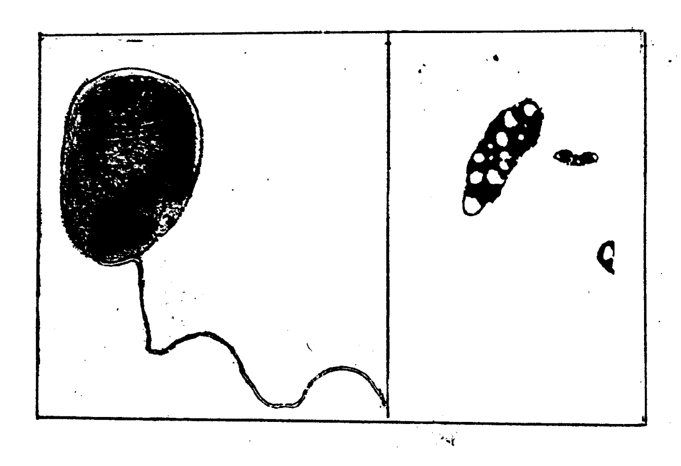
الميكروب كان يسمى سابقا Spirillum ولكن بعد ان ثبتت عام ١٩٧٦ قدرته فــى التثبيت اطلق عليه اسم Azospirillum،والميكروب حلزونى قصير (واوى أو ذو ثنيتين) ، سمكه ١ر٠ um وطوله حوالى ٢ر٠ um ، جداره صلب ، سالب لصبغة جرام ، غير متجرثم ،يكون قشرة بيضاء تحت سطح البيئة السائلة ، ومستعمراته بيضاء أو وردية اللون على البيئة الصلبة ، وتحتوى الخلايا على حبيبات من النوع Poly B-hydroxy butyrate .

وتعتبر مادة Poly B-hydroxy butyrate ، أحد الصور الهامة لتخزيــن الغذاء ومصدرا للطاقة ، وهى توجد عادة فى الميكروبات المثبتة لازوت الهواء الجوى عموما . ويتراوح محتوى خلايا الازوسبيريلام من هذه المادة من ٧ر٠ الى ٣ر٢٣٪ من وزن الخلايــا الجاف ، حيث تتمشى كميتها مع عمر المزرعة .


خلايا واوية


خلايا حلزونيـــة

شكل رقم (٦-٤) : خلايا ازوسبيريللام عمرها ٢٤ ساعة نامية فى بيئة خالية مـن الملالات ومصبوغة بالطريقة السالبة (× ٨٠٠) .
(From FAO Soils Bull. No. 49, 1982).


خلايا مخزنة BHB (× ١٠٫٠٠٠) الفلاجلات الطرفية (× ٢٢٫٠٠٠)

شكل رقم (٦-٥) : ازوسبيريللام ليبوفيروم معزولة من ريزوسفير الذرة .
(From FAO Soils Bull. No. 49, 1982).

وتستهلك الميكروبات هذه المادة عند تناقص مصدر الكربون والطاقة بالمزرعة ، وتستخدمها بكفاءة تماثل استخدامها لحمض الماليك أو الجلوكوز وهى مواد تعتبر من مصادر الكربون المثلى لنمو هذا الميكروب .

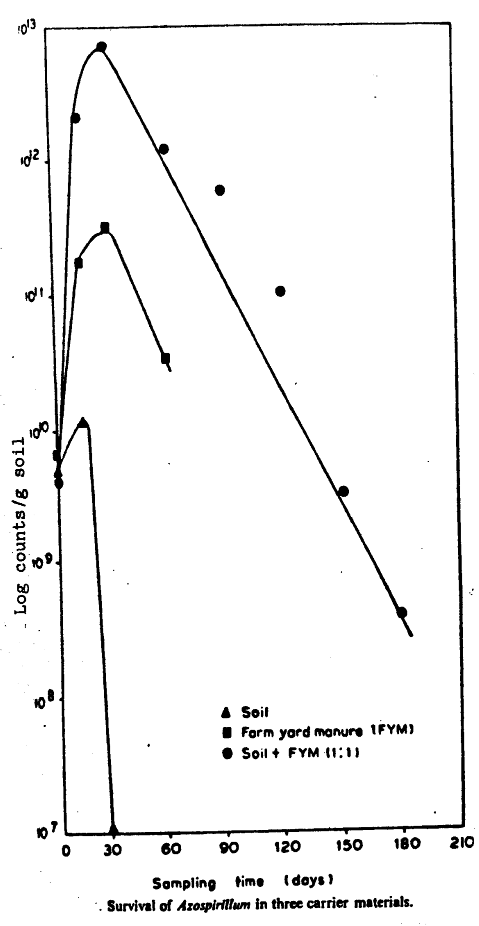
والميكروب متحرك بخصلة من الفلاجلات فى الطرف ، هوائى ، ولكن يثبت النتروجين تحت ظروف Micro-aerophilic أى عند ضغط اكسجينى pO_2 أقل من ٠١ر. جوى (مستوى pO_2 المعتاد فى منطقة الريزوسفير حوالى ٢ر.) ، وحرارة الميكروب المثلى من ٢٥ - ٣٠°م ، ويقف النمو عند درجة أقل من ١٨°م أو أعلى من ٤٢°م ، ويلائمه الوسط المتعادل فهو حساس للحموضة مثل الازوتوباكتر .

ويحصل الميكروب على الطاقة من اكسدة الاحماض العضوية مثل اللاكتيك أو الماليك ، ويمكن للميكروب أن ينمو جيدا فى بيئة بها جلوكوز أو سكروز ، ولكن هذه المصادر الكربونية تشجع نمو الميكروبات الاخرى معه بالبيئة .

ويعزل عادة على بيئة نصف صلبة بها مالات الكالسيوم ومستخلص الخميرة . والميكروب ينتشر فى اراضى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية،ويوجد بكثرة فى الاراضى الموجود بها حشائش grasses ومحاصيل الحبوب كالذرة والقمح والارز وقصب السكر ، وقد وجد باعداد كبيرة فى الاراضى المصرية (تصل الى ١٠^٤) فى ريزوسفير كثير من النباتات وفى حقول الارز، وفى ريزوسفير بعض النباتات المائية مثل الايكورنيا والبوص والبردى .

يعتبر هذا الميكروب من اهم الميكروبات المثبتة للنتروجين فى المناطق الاستوائية ، وهو يثبت النتروجين فى الحالة الحرة أو بالتعاون مع جذور بعض النباتات مثل نبات الذرة ونبات Digitaria حيث وجدت البكتريا على سطوح الجذور او فى Middle lamella لخلايا الجذور ، ويحتمل انه يدخل الى تلك المناطق بالجذر بمساعدة مايفرزه من انزيمات محللة للبكتين، ونظرا لمقدرة هذا الميكروب على تثبيت النتروجين الجوى فى الحالة الحرة أو بالتعاون مع الجذور فيطلق عليه تعبير مثبت للنتروجين نصف تكافلى Semi-Symbiotic N_2 - fixer ، و يثبت الميكروب النتروجين بكفاءة تقارب من كفاءة الازوتوباكتر فهو يثبت بمعدل حوالى ٢٠ كجم ن/فدان/سنة، وتجرى الان دراسات لامكان استخدامه كلقاح يضاف للتربة خاصة فى محاصيل النجيليات كالذرة لاغناء التربة بالنتروجين ، لرفع المحصول، كما يمكن استخدامه بتلقيح البذور عند زراعتها ، وذلك بعد تنمية الميكروب فى بيئة سائلة بها ١ جم صمغ عربى كمادة لاصقة ، وبعد النمو تصب البيئة على البذور فتلتصق بها .

ولهذا الميكروب نوعان : *1. Azospirillum brasilienses* وهو موجب لاختبار الكاتاليز ولا يحتاج فى نموه الى بيوتين، *2. Azospirillum lipoferum* وهو سالب لاختبار الكاتاليز ، ويحتاج الى بيوتين فى نموه ، وهذا النوع هو اكثرها شيوعاً فى الاراضى المصرية .



. Survival of *Azospirillum* in three carrier materials.

شكل رقم (٦-٦) : حيوية الازوسبيريللام فى ثلاث حوامل .

(From Subba Rao, 1982).

وقد عزلت Dobereiner عام ١٩٨٣ نوعا جديدا بمناطق الامازون بامريكا الجنوبية اسمه *Azospirillum amazonenses* ، يوجد بكثرة فى اراضى النجيليات والنخيل، وتصل اعداده على سطح جذور هذه النباتات الى ١٠^٦ / جم،وهذا النوع يختلف عن النوعين السابقين بحساسيته الشديدة للظروف القلوية وللاكسجين ، وبقدرته على تمثيل السكروز كمصدر للكربون وليس الفركتوز أو السترات .

وقد اوضحت بعض التجارب ان النباتات ذات نظام التمثيل الضوئى C_3 مثل الارز ، القمح ، الشعير ، الراى ، oat ، تتعايش بدرجة أكبر مع *Azosp. braziliens*es ، أما النباتات ذات النظام C_4 مثل الذرة والذرة السكرية ونباتات المراعى ، فانها تتعرض للغزو بسهولة من *Azosp. lipoferum* .

ويجدر بالذكر ان افراد جنس *Azospirillum* sp. تشارك فى جميع خطوات دورة النتروجين عدا عملية التأزت ، فهى تستطيع أن تثبت الازوت ، كما انها تستطيع ان تختزل الازوتات وتطلق الازوت كمصدر للطاقة واستقبال الالكترونات ، وعلى مدى توفر أ٢ ، ن أ٣ بالبيئة النامى بها الميكروب ، يتحدد ما اذا كان الازوسبيريللام سيقوم بتثبيت الازوت او باختزال الازوتات .

٧) *Campylobacter*

عزل هذا الميكروب من جذور بعض النباتات النجيلية مثل Spartina ، ووجد ان له القدرة على تثبيت الازوت . وهو يتشابه فى كثير من صفاته مع الازوسبيريللام ، ولكن يختلف عنه فى نسبة محتواه من القواعد النتروجينية c + g ، وغياب PHB وانه محب للهواء بكمية قليلة اجباريا .

٨) **ميكروبات اخرى :**

ذكر بعض العلماء ان بعض الميكروبات الهتروتروفية تستطيع أن تثبت ازوت الهواء الجوى مثل : *Bacillus polymyxa, Enterobacter, Achromobacter, Desulfovibrio, Nocardia, Arthrobacter, Corynebacterium, Flavabacterium capsulatum* .

غير ان قدرة هذه الميكروبات على التثبيت ضعيفة (وتسمى مثبتات ضعيفة Oligo nitrogen Fixers) لاتتعدى ٥ ملليجرام نتروجين لكل جرام سكر ممثل ، وقد كشف عنها باستخدام النظائر المشعة ^{15}N وباستخدام اختزال الاستيلين .

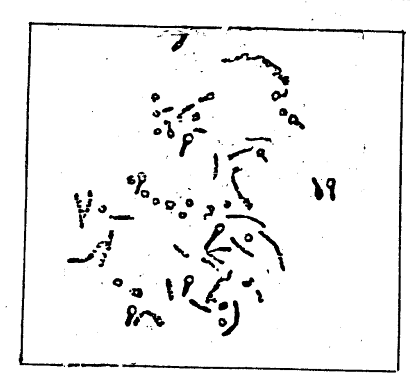
ب) البكتريا غير الهوائية المثبتة للازوت الجوى :

تستطيع كثير من أنواع جنس الـ Clostridium تثبيت النتروجين الجوى لا هوائيا، من أهمها :

ميكروب الكلوستريديوم *Clostridium pasteurianum* :

وهو من الميكروبات غير الهوائية حتما ، الموجبة لصبغة جرام المتجرثمة بجرثومة طرفية أو قريبة من الطرف مع حدوث انبعاج ، ولقد وجد ان العدد بالتربة الزراعية قد يزيد على ١٠٠,٠٠٠ ميكروب/جم ، وهذا يزيد عن اعداد الازوتوباكتر مما دعى كثير من الباحثين أن يشيدوا بأهمية هذا الميكروب عن الازوتوباكتر من حيث تثبيت الازوت الجوى . وتستطيع الكلوستريديا أن تعيش فى الاراضى الحامضية التأثير بعكس الازوتوباكتر ، مما يعطى أهمية لهذا النوع فى التربة الزراعية .

ولقد أوضح Bredemann* أن تثبيت الازوت الجوى يحدث من الميكروبات المنتجة لحمض البيوتريك عموما ، وهذه الميكروبات تستطيع أن تتحمل الحموضة عن الازوتوباكتر ، ولو أن درجة pH المثلى لهذه الميكروبات تقرب من التعادل (pH ٧) ، وكمية الازوت التى تستطيع أن تثبتها فى المزرعة النقية حوالى ٢-١٠ ملليجرام أزوت لكل جرام سكر ممثل ، وهذا القدر أقل من الازوتوباكتر .



Cl. pasteurianum

شكل رقم (٦-٧) : بكتريا مثبتة لازوت الجو لاهوائيا .

* c.a. Waksman, 1952.

ويجب أن نشير الى أنه من بين مئات الخلايا الحية من هذا الجنس التى تعيش فى مزرعة ، القليل منها فقط ، هو الذى يستطيع أن يظهر على هيئة مجاميع واضحة على البيئات الصناعية ، وعلى هذا يمكن القول بأن هذا الميكروب ينتشر فى الاراضى بأعداد وفيرة جدا ، وذلك لانه عند تقدير العدد فى عينات من الاراضى لا يظهر الا جزء من العدد فقط .

ولقد وجد كثير من الباحثين فى مصر أن الميكروبات اللاهوائية المثبتة لازوت الهواء الجوى توجد باعداد كبيرة بالاراضى المصرية قد تتجاوز الملايين فى الجرام الواحد ، كما وجدت فى الاراضى القلوية والصحراوية وريزوسفير كثير من النباتات الحقلية والصحراوية ، كما وجدت بكميات كبيرة فى الاراضى الغدقة والاراضى المزروعة بالارز .

وعلاوة على الكلوستريديا فأن انواعا من الاجناس Desulfotomaculum and Desulfovibrio تستطيع تثبيت النتروجين لا هوائيا .

الميكروبات اللاتكافلية المثبتة للازوت فى الاراضى المصرية :

تعتبر اراضى وادى النيل بيئة صالحة لنمو الميكروبات اللاتكافلية المثبتة للازوت . وتشمل هذه الميكروبات مجموعة خليطة من الازوتوباكتر والازوسبيريللام والكلوستريديوم والباسلس ، بالاضافة الى العصويات السالبة لصبغة جرام التابعة لاجناس Klebsiella, Enterobacter .

ويتأثر نشاط وأعداد هذه الميكروبات بظروف التربة،خاصة محتواها من الرطوبة ومايضاف لها من مواد عضوية . فيقل اعداد هذه الميكروبات بانخفاض نسبة المادة العضوية بالتربة وبانخفاض نسبة الرطوبة التى تقل عن ٢٠ ٪ صيفا ، وبارتفاع درجة الحرارة التى تصل بالتربة الى ٣٥°م صيفا .

ولقد وجد أن أكثر الميكروبات المثبتة للازوت الجوى تواجدا فى جذور النباتات الصحراوية ، التابعة للعائلة الصليبية ، هى الكلوستريا و *Azospirillum braziliense*s ، وهذا يبين أهمية الدور الذى تلعبه هذه الكائنات فى المساهمة بتوفير بعض الاحتياجات الازوتية لهذه النباتات التى تنمو وتزهر فى أوساط بيئية فقيرة .

ثانيا : البكتريا الممثلة للضوء Phototrophic bacteria :

كثير من أنواع البكتريا الممثلة للضوء تستطيع تثبيت النتروجين . ومن المعروف ان البكتريا الممثلة للضوء تقسم تبعا لتقسيم برجى (١٩٨٤) الى قسمين رئيسيين هما :

١) البكتريا الممثلة للضوء غير الاكسوجينية Anoxygenic phototrophic bacteria: ويطلق عليها هذا الاسم لانها تقوم بالتمثيل الضوئى تحت الظروف اللاهوائية ، ولا ينطلق من التمثيل الضوئى اكسوجين.

٢) البكتريا الممثلة للضوء الاكسوجينية Oxygenic phototrophic bacteria : وهى التى يطلق عليها عادة اسم الطحالب الخضراء المزرقة ، وهذه تتميز بأنها تقوم بالتمثيل الضوئى بطريقة مشابهة للنباتات الراقية ، ويخرج بالتالى اكسوجين من عملية التمثيل الضوئى .

١) البكتريا الممثلة للضوء غير الاكسوجينية :

تتضمن انواع البكتريا الممثلة للضوء غير الاكسوجينية المثبتة للنتروجين الجوى ثلاث مجموعات كما يلى :

أ) البكتريا الارجوانية غير الكبريتية non-sulfur purple bacteria

ويتبعها اجناس : Rhodospirillum, Rhodomicrobium, *Rhodo-pseudomonas capsulatum.*

ب) البكتريا الارجوانية الكبريتية Purple sulfur bacteria ويتبعها اجناس : Chromatium, Ectothiorhodospira

جـ) البكتريا الخضراء الكبريتية Green sulfur bacteria

ويتبعها جنس : Chlorobium.

وتتميز هذه الميكروبات عموما بأنها ميكروبات لا هوائية تستخدم CO_2 والضوء كمصادر للكربون والطاقة ، ولذلك فأن قيامها بتثبيت النتروجين لا يحتاج لمادة عضوية كمصدر للطاقة ، ومقدار ماتثبته هذه الميكروبات من نتروجين لم يمكن تقديره بدقة حتى الآن .

البكتريا الممثلة للضوء تثبت النتروجين تحت ظروف لا هوائية ، ولذلك فأنها تبدو قليلة الاهمية فى الاراضى العادية ، غير أنه فى حالة توفر الظروف اللاهوائية كما يحدث فى بعض الاراضى أو البحيرات والينابيع الكبريتية ، ففى هذه الاحوال فأن تلك البكتريا تلعب دورا هاما فى زيادة محتوى الوسط من النتروجين المثبت .

٢) البكتريا الممثلة للضوء الاكسوجينية (الطحالب الخضراء المزرقة) :

بدأ التعرف على قدرة هذه المجموعة على تثبيت النتروجين الجوى من خلال التجارب التى اجراها (Drewes, 1928)*.

* c.a. Waksman, 1952.

والطحالب الخضراء المزرقة من الكائنات المثبتة للنتروجين ، التى لها القدرة على التمثيل الضوئى مثل النباتات الراقية ، مستعملة الماء كمعطى نهائى للالكترونات ومنتجة O_2 أثناء العملية .

ويوجد من تلك الطحالب أكثر من ٦٠ نوعا لها القدرة على تثبيت النتروجين ، غير أنه يمكن وضعها تحت ٣ أقسام رئيسية كما يلى :

أ ـ الانواع الخيطية التى تكون هتيروسست :

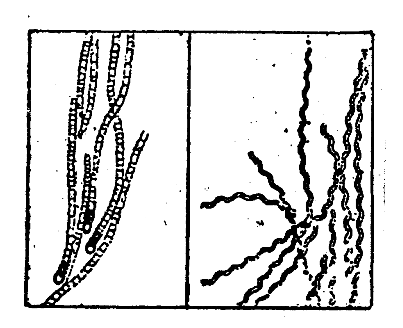
Heterocystous filamentous forms : e.g. Nostoc, Anabaena, Aulosira, Calothrix, Cylindrospermum, Tolypothrix, Westiellopsis, Fischerella.

ب ـ الانواع الخيطية التى لاتكون هتيروسست :

Non-heterocystous filamentous forms : e.g. Oscillatoria, Plectonema, Phormidium, Lyngbya, Spirulina.

جـ ـ الانواع وحيدة الخلية :

Unicellular forms : e.g.
Gloeocapsa (Gloeotheca), Aphanotheca.



Cylindrosprumum , Arthrospira jenneri, Licheniformis.

شكل رقم (٦-٨) : طحالب خضراء مزرقة .

تعتبر المجموعة الاولى من الطحالب (المكونة للهتيروسست) من أكثر الانواع التى درست ، ولها القدرة على تثبيت النتروجين فى وجود الهواء الجوى ، لوجود انزيم النيتروجيناز فى خلايا خاصة لاتنتج اكسجين وهى خلايا الهيتروسست ، وفى مثل هذه الطحالب يوجد منافذ Pore channels بين الخلايا تسمح بتبادل الكربون والنتروجين بين الهتيروسست والخلايا الخضرية .

أما طحالب المجموعة الثانية (التى لاتكون هتيروسست) فقد اكتشفت قدرتها على التثبيت بواسطة(Stewart & Lex, 1970)* ،وهذه الطحالب وان كانت تستطيع النمو هوائيا فى وجود ازوت بالبيئة الا انها لاتثبت النتروجين الا تحت ظروف لا هوائية لعدم وجود نظام بالخلايا يحمى انزيم النيتروجيناز من اكسجين الهواء الجوى ، وفى هذا تتشابه مع البكتريا الممثلة للضوء المثبتة للازوت .

أما طحالب المجموعة الثالثة (الوحيدة الخلية) فتثبت النتروجين تحت ظروف هوائية نظرا لوجود نظام كفء من الفصل Compartmentalization بين النظام المنتج للأكسجين والنظام المثبت للنتروجين داخل الخلية الواحدة ، حيث يحاط انزيم النتروجيناز بما يشبه الاغشية التى تحميه من الاكسجين . وتقوم الطحالب الخضراء المزرقة التى أهمها Anabaena , Nostoc بتثبيت النتروجين بدرجة عالية الا انها تحتاج الى اضاءة قوية وثانى أكسيد الكربون لكى تثبت النتروجين فى البيئة الصناعية ـ وهذه الميكروبات يمكن اعتبارها عائشة على الهواء الجوى اساسا من حيث تغذيتها Living on air فهى هوائية وتستعمل CO_2 الجو كمصدر للكربون،والنتروجين الجوى لتكوين البروتين . ويستطيع الطحلب Nostoc ان يثبت ١٠ ملليجرام نتروجين فى ٤٥ يوم ، ١٨ مليجرام فى ٨٥ يوم لكل ١٠٠ سم^3 من البيئة .

وفى موسم الارز تثبت هذه الطحالب من ١٠ - ٢٥ كجم أزوت/فدان ، ولقد وجد أن حوالى ٣٠٪ من الازوت المثبت بالطحالب ينساب الى الوسط الخارجى فى صورة أحماض أمينية أهمها الجلوتاميك والاسبارتيك ثم الانين ، كما وقد ينساب النتروجين المثبت فى صورة أمونيا .

وعندما تزيد كمية النتروجين المثبتة بالطحالب أو فى البيئة عن حاجته ، فأن الطحلب يخزن هذا النتروجين الزائد فى مركبين أساسيين :

١ - صبغة الـ Phycocyanin التى تعمل مع صبغات النظام الضوئى رقم ٢ (وهو الخاص بتحليل الماء وانطلاق الاكسجين) كمخزن للنتروجين تمد الطحالب به فى حالة نقصه.

٢ - حبوب بنائية Structural granules وهى غالبا بلمرات من حمض الاسبارتيك والارجنين التى قد تشغل فى بعض الاحيان من ١٠-٣٠٪ من حجم الخلية .

* c.a. Fogg *et al.* 1973.



Electron micrograph - Filaments of 10 days old *Nostoc* spp. (X 1200).

شكل رقم (٦-٩) : خيط بطحلب نوستوك عمره ١٠ أيام . (x ١٢٠٠)



Electron micrograph - Heterocyst of 10 days old culture for *Nostoc* spp. (X 6000).

شكل رقم (٦-١٠) : هتيروسست بطحلب نوستوك عمره ١٠ أيام . (x ٦٠٠٠)

(From Higazy A.M., Asymbiotic N_2-fixation in Egyptian aquatic environment, Ph.D.Thesis, Fac. Agric., Cairo Univ., 1985).

توجد الطحالب الخضراء المزرقة فى المياه العذبة والمالحة كما تسكن الاراضى وينتشر الجنسان Nostoc & Anabaena على نطاق واسع فى الطبيعة .

وتستطيع بعض الطحالب الخضراء المزرقة مثل *Nostoc muscorum* النمو فى الظلام هيتروتروفيا ، بشرط توفر مصدر للطاقة مثل الجلوكوز أو السكروز ، كما تستطيع فى هذه الحالة تثبيت النتروجين ، ولكن يلاحظ ان مقدار النمو والتثبيت يكون أقل بكثير من مثيله فى حالة النمو الاوتوتروفى ، وقد يعود ذلك الى نقص كمية الـ ATP الناتجة من الفسفرة التأكسدية Oxidative Phosphorylation ، وهذا يحد من نشاط انزيم النيتروجيناز .

عملية تثبيت النتروجين الجوى تتم فى الخلايا الخضرية فى الطحالب الخيطية تحت شروط لا هوائية وذلك فى الطحالب التى لا تكون هتيروسست ، بينما تتم هذه العملية تحت الظروف الهوائية فى الطحالب المكونة للهتيروسست حيث تعتبر هذه الخلايا مكان التثبيت بينما تقوم الخلايا الخضرية بالطحالب بعملية تثبيت ثانى اكسيد الكربون واخراج الاكسجين . ومن الناحية المورفولوجية ، فأن خلية الهتيروسست تبدو فارغة تحت الميكروسكوب الضوئى ، عادة ماتكون أكبر من الخلايا الخضرية ، وهى توجد على مسافات بطول خيط الطحالب ، وفى نهايته فى بعض الانواع .

وتمتاز خلايا الهتيروسست عن الخلايا الخضرية فى انها خالية من صبغة Phyco-cyanin ومن حبيبات Polyphosphate ومن النظام الضوئى رقم ٢ ومن Poly-hydral bodies التى تعتبر مركز نشاط انزيم 1,5 diphospho-ribulose carboxylase المسئول عن تثبيت CO_2 ، غير أنها تحتوى على النظام الضوئى رقم ١ فى حالة نشطة ، ولها منافذ تربطها بالخلية الخضرية المجاورة . ونسبة الكربون الى النتروجين بها حوالى ٨ : ١ ، وخلايا الهتيروسست النشطة تكون خالية من الصبغات الضوئية بينما تتواجد هذه الصبغات فى الخلايا المسنة ويختفى منها انزيم النيتروجيناز ، ويمكن عزل الطحالب الخضراء المزرقة على هيئة مزارع نقية باستعمال السليكا الغروية مع مقاومة البكتريا الملوثة للطحالب بالاشعة فوق البنفسجية .

ويعتبر عمر الجيل فى هذه الطحالب أطول من مثيله فى البكتريا ، حيث يصل عمر الجيل بالطحلب الاخضر المزرق الى ٢٠ - ٢٥ ساعة فى حالة Nostoc & Anabaena . ولتنمية الطحالب الخضراء المزرقة الخيطية المكونة للهتيروسست تستعمل طريقة المزرعة الثابتة، لان استعمال طريقة المزرعة المهتزة بما فيها من رج وتقليب يترتب عليه كسر خيط الطحالب وتقليل كفاءته فى التثبيت .

وبالاضافة الى عوامل الاضاءة والتهوية وتوفر عناصر التغذية ، فأن من العوامل البيئية المؤثرة على كفاءة الطحلب فى النمو والتثبيت ما يلى :

١ - الجفاف Desiccation :

يعتبر الجفاف من العوامل الهامة المحددة لمعدل النمو والتثبيت ، ويزيد المعدل بزيادة رطوبة الوسط النامي به الطحلب .

٢ - الحرارة Temperature :

يتأثر معدل التثبيت بدرجة الحرارة ، ويحدث أعلى معدل تثبيت لاغلب الانواع مابين درجة ٢٥ - ٥٠°م . ويبدو أنه لا يحدث تثبيت بعد درجة ٦٠°م .

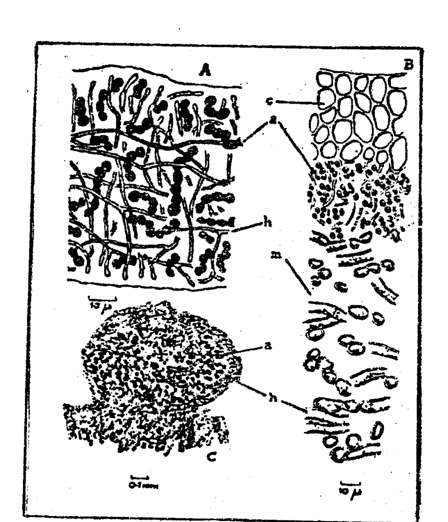
الطحالب الخضراء المزرقة والمعيشة التكافلية :-

تستطيع بعض أنواع الطحالب الخضراء المزرقة أن تثبت النتروجين الجوى وهي في معيشة تعاونية مع نباتات أخرى متعددة يتراوح مابين الفطريات الى مغطاة البذور ، ولكل عائل نوع الطحلب الخاص به ، وذلك كما يتضح من الجدول رقم (٦-٢) :-

Table (6-2): Cyanophta-Eucaryotic plant symbiosis.

Symbiotic plant	Genera	Phycobiont (Endophyte)
Fungi (lichens)	Collema, Peltigera ... etc	Nostoc
Bryophyta (Liverworts).	Anthoceros, Blasia ... etc	Nostoc
Pteridophyta (Ferns)	Azolla	Anabaena
Gymnosperm (Cycads)	Cycas, Macrozamia ... etc	Nostoc, Anabaena
Angiosperm	Gunnera (stem symbiosis)	Nostoc

كما تستطيع أنواع من الطحالب الخضراء المزرقة أن تثبت النتروجين تكافليا في بعض أنواع البروتوزوا مثل أجناس : Cyanophora, Peliaina .... etc.



شكل رقم (٦-١١) : الآشــن .

تركيـب الثالـوث :

A. Homoiomerous type, *Collema sp.*

B. Heteromerous type, *Peltigera horizontalis*

C. A cephalodium of *P. aphthosa*

a, algal cells; h, fungal hyphae; c, cortex; m, medulla.

(From Hardy & Silver, 1977).

شكل رقم (٦-١٢) : البلازيا Blasia

A. Thallus, with Nostoc colonies (n).

B. Nostoc colony, showing papillae (p).

C. Squashed preparation of Nostoc colony showing papillae.

(From Hardy & Silver, 1977).

Spirulina

طحلب أخضر مزرق خيطى Trichome والخيط مكون من خلايا خضرية حلزونية ، لا يكون هتيروسست ، وله القدرة على تثبيت الازوت الجوى ، بالاضافة الى أنه يستخدم فى انتاج بروتين ميكروبى بتنميته على بيئة مائية معدنية فى وجود الضوء .

والطحلب بطىء النمو فى الشتاء اذا ماقورن بنموه فى الصيف . كما أنه من طحالب المياه المالحة فيحتاج فى نموه الى ماء مالح كمياه البحيرات . ومن أهم أنواعه *Spirulina maxima* .

ومما يذكر أن هذا الطحلب يستعمل كغذاء للانسان أو يضاف لعلائق الحيوان فى بعض البلاد مثل تشاد ، حيث تبلغ الانتاجية السنوية للطحلب من ١٠ - ٢٠ طن بروتين جاف / فدان .

أهمية الطحالب الخضراء المزرقة :

أهمية الطحالب الخضراء المزرقة فى الاراضى فى تثبيت النتروجين مازالت موضع جدال ، اذ أن المعروف أنها تثبت أزوت الهواء الجوى عند تعرضها لاشعة الشمس وعليه فيتحتم أن توجد على سطح التربة، ولكن العمليات الزراعية كالحرث والعزق تدفنها بالارض ، وفى هذه الحالة تصبح الخلايا غير قادرة على تثبيت الازوت . ولكن يجدر أن نعير اهمية كبيرة لهذه الطحالب فى الاراضى المزروعة بالارز والنباتات المائية حيث تغمر الاراضى بالمياه لمدد طويلة، وفى هذا المجال تعتبر الطحالب الخضراء المزرقة الخيطية وخاصة المكونة للهتيروسست من أنسب الكائنات المجهرية للتسميد الازوتى فى هذا الوسط ، فهى لها القدرة على التثبيت من الهواء فى وجود الماء مستخدمة الطاقة الشمسية ، وهذه هى احتياجاتها الاساسية للتثبيت الازوتى بالاضافة الى الفوسفور .

تبلغ المساحة المنزرعة أرز فى مصر حاليا (عام ١٩٨٥) حوالى ١٫٢ مليون فدان . ويحتاج الارز الى ٤٠ وحدة أزوت للفدان . وقد وجد أن استخدام مائة جرام طحالب جافة للفدان وقت شتل الارز (ثمنها حوالى ١٫٠ جنيه) توفر من $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{2}$ كمية الازوت اللازم أى من ١٥ - ٢٠ وحدة أزوت للفدان .

ويتم حاليا فى محطة البحوث الزراعية بسخا انشاء صوب لانتاج طحالب خضراء مزرقة ذات كفاءة عالية فى تثبيت الازوت ، لاستخدامها كلقاح للارض المنزرعة أرزا ، مما سيوفر ثلث احتياجات الارز على الاقل من السماد الازوتى المعدنى .

وتعطى الصوبة المقامة على مساحة فدان مايكفى لتلقيح ٥٠ ألف فدان أرز سنويا بالطحالب الخضراء المزرقة .

وبالاضافة الى قدرة الطحالب الخضراء المزرقة على تثبيت أزوت الهواء الجوى ، فانهـا تفرز مجموعة من العوامل المساعدة على النمـو مثل IAA وفيتامينات مثل B_{12} وحمـض الاسكوربيك ، تؤدى الى زيادة انتاج المحصول المنزرع .

وتستخدم الطحالب الخضراء المزرقة فى الاراضى المزروعة أرز فى بعض البلاد كما فـى الهند ،لمعالجة الارض القلوية التى يصـل فيها الـ pH الى ٥ر٩ أو أكثر،حيث تستعمل تلك الطحالب ايون الكربونات كمصدر كربونى لبناء أجسامها ، ومن تلك الطحالب المستعملـة جنسى Hapalosiphon, Westiellopsis .

كما تجرى الان تجارب لانتاج سلالات من الطحالب الخضراء المزرقة المثبتة للازوت تكـون خالية من أنزيم glutamine synthetase فلا يتحـول الازوت المثبت بأجسامها فـى صورة أمونيا الى أحماض أمينية ، وبذا تنساب تلك الامونيا خارج الخلايا الى البيئة حيـث يمكن استخدامها فى بعض الصناعات مثل صناعة المخصبات ، وبذلك يستفاد من الطاقـة الشمسية بطريقة بيولوجية فى انتاج الاسمدة .

العوامل المؤثرة على معدل تثبيت النتروجين لا تكافليا :-

FACTORS AFFECTING NON-SYMBIOTIC N_2-FIXATION

١) **محتوى التربة من النتروجين المعدنى :** تستطيع أغلب الميكروبات المثبتة للنتروجين أن تستخدم الامونيا وأحيانا النترات وبعض صور النتروجين الموجودة فى التربة ، وعلـى ذلك فأن توفر هذه المركبـات وخصوصا املاح الامونيوم فى التربة يحبط عملية تثبيـت النتروجين لحد كبير حيث أن الميكروبات المثبتة سوف تجد أمامها مصدرا جاهـزا للنتروجين بدلا من التثبيت .

٢) **توفر عناصر معدنية معينة :** تتطلب الميكروبات المثبتة للنتروجين لنموها الامثل وقيامها بالتثبيت توفر بعض العناصر المعدنية اللازمة بحيث يؤدى توفرها فى التربة الى زيادة معدل التثبيت والعكس صحيح ، ومن أهم هذه العناصر المولبدينم والحديد والكالسيوم والكوبالت . والمولبدينم ضرورى لعملية التثبيت حيث يحتوى انزيم النتروجينيـز Nitrogenase المسئول عن التثبيت على هذا العنصر،والكميات من المولبدينـم اللازمة لنشاط عملية التثبيت ضئيلة جدا تصل الى اجزاء فى المليون ولكن بدونها لا يتـم التثبيت . أما من ناحية عنصر الحديد فلقد وجد أنه ضرورى لعملية تثبيت النتروجيـن فى الازوتوباكتر والكلوستريديا والطحالب وغيرها . ولقد اتضح حاجة بعض أنـواع الازوتوباكتر والطحالب الخضراء المزرقة للكالسيوم لقيامها بعملية تثبيت النتروجين ونمـو الميكروبات ايضا ، كما امكن اثبات ان كثيرا من مثبتات النتروجين تحتاج للكوبالت لقيامها بعملية التثبيت .

٣) **توفر مصادر الطاقة** : يعتبر توفر مصادر مناسبة للطاقة من أهم العوامل المؤثرة علــى تثبيت النتروجين فى التربة ، ولقد وجد أن اضافة سكريات بسيطة أو سليولوز وقش ذو نسبة C/N ratio واسعة يزيد من عملية التثبيت كثيرا سواء تحت الظروف الهوائية أو اللاهوائية ، وان معدل التثبيت يصل الى ١٠ ـ ٣٠ مليجرام نتروجين لكل جـــرام مادة قابلة للاكسدة .

٤) **درجة الحموضة** : ولها اثر واضح على معدل التثبيت فى التربة فالازوتوباكتر حساس جدا للحموضة ، مما يجعله لايكون موجودا فى الاراضى الحامضية وتماثله فى التأثـــر بالحموضة الطحالب المزرقة . أما البيرينكيا فأنها ليست حساسة للحموضة وتستطيـــع النمو فى درجات حموضة بين pH ٣ ـ ٩ والكلوستريديا تقع بين الازوتوباكتر والبيرينكيـــا من ناحية حساسيتها للحموضة ، وعلى العموم يمكن القول بأن أنسب الاراضى لتثبيـــت النتروجين هى المتعادلة أو المائلة قليلا للقلوية .

٥) **الرطوبة** : وتعتبر من العوامل الرئيسية المؤثرة على النشاط البيولوجى عموما،وعمليـة التثبيت تتوقف فى التربة الجافة وتزداد بزيادة الرطوبة،وأعلى معدل للتثبيت يكون عنـد درجة رطوبة قريبة من السعة الحقلية field capacity ،بل قد لوحظ ان الاراضى المغمورة يكون فيها معدل التثبيت عاليا،ومن هذا يتضح أن أعلى معدلات التثبيـــت تتم فى الظروف اللاهوائية .

٦) **درجة الحرارة** : وتؤثر ايضا تأثيرا واضحا على معدل تثبيت النتروجين فى التربة ، ففى درجات الحرارة المنخفضة يكون المعدل منخفضا ويزداد مع رفع درجة الحرارة الـى ان تصل الى أعلى معدل لها عند ٢٥ ـ ٣٠°م ثم ينخفض بسرعة برفع درجة الحـــرارة عن الدرجة المثلى .

تلقيح التربة بالميكروبات اللاتكافلية المثبتة للنتروجين :-

لقد اتجهت البحوث الى زيادة اعداد الميكروبات المثبتة للنتروجين فى الاراضى لزيادة معدل التثبيت وامداد النباتات باحتياجاتها من النتروجين مع تقليل التسميد النتروجيـــنى ومايحيط به من مشاكل التلوث والفقد والتكلفة . والدراسات على تلقيح التربة أو البـــذور بالازوتوباكتر (يسمى اللقاح Azotobacterin) أو الطحالب الخضراء المزرقــــة (Algalization) عديدة ونتائجها مشجعة . ولقد اظهرت الدراسات ان محاصيل الذرة والطماطم والجزر والقطن تستفيد من عملية التلقيح بالازوتوباكتر حتى تصل الزيادة فـى المحصول الى ١٠ ٪ أو أكثر .

ومع أن الدراسات بالنظائر المشعة أو بتقدير النتروجين لم تثبت بوضوح زيادة واضحـــة فى محتوى التربة من النتروجين،الا ان الاثر على المحصول كثيرا ما يكون واضحا،وهذا ادى الى

ان عـــزى كثير من الباحثين اثر التلقيح بالازوتوباكتر ليس فقط لانه مثبت للنتروجين ، ولكـــن لان الميكروب قادر على انتاج هورمونات ومنظمات للنمو تشجع نمو النباتات وزيادة المحصـــــــــول ، ولقد امكن بالفعل عزل كثير من الاندولات والجبريلينات Indoles and gibberellins من مزارع الازوتوباكتر .

أما الدراسات على استخدام الطحالب الخضراء المزرقة فهى محدودة على محصول الارز ، وذلك نظرا لأن هذه الطحالب تحتاج الى رطوبة عالية لنموها ، ولقد اثبتت كثير مـــــــــــن التجارب نجاح التلقيح فى زيادة محصول الارز .

ولقد بدأ مركز البحوث الزراعية المصرية (شعبة الميكروبيولوجيا الزراعية) منذ عـــــام ١٩٧٧ فى انتاج اللقاحات من الطحالب الخضراء المزرقة بشكل تجارى محملة على وســـــط صلب لتلقيح الاراضى بها (أسوة بما يتبع فى الريزوبيا) .

٧– الميكروبات المثبتة لازوت الهواء الجوى التكافلية

SYMBIOTIC NITROGEN FIXERS

يقوم عدد كبير من البكتريا والاكتينوميسيتات وبعض الطحالب الخضراء المزرقة بتثبيت الازوت الجوى فى عقد جذرية بالاشتراك مع بعض نباتات معراة ومغطاة البذور ، كما يلى :

صور التكافل فى العقد الجذرية :

١ - التكافل بين الريزوبيا والنباتات البقولية Rhizobium-legume symbiosis كما فى البرسيم .

٢ - التكافل بين الريزوبيا والنباتات غير البقولية Rhizobium-non legume symbiosis كما فى *Trema cannabina* .

٣ - التكافل بين الاكتينوميسيت والنباتات غير البقولية Actinomycete-non legume symbiosis كما فى الكازورينا .

٤ - التكافل بين الطحالب الخضراء المزرقة ومعراة البذور Blue green algae - gymnosperms symbiosis كما فى السيكاس .

البكتريا العقدية للنباتات البقولية :

عرف منذ زمن طويل ما للنباتات البقولية من أثر كبير فى خصوبة التربة ووفرة المحاصيل الاخرى التى تأتى بعد البقوليات مثل الحبوب . ولقد فحص حتى الآن حوالى ١٥٪ من النباتات البقولية على مستوى العالم من حيث تكوين العقد الجذرية ، اما الـ ٨٥٪ الباقية من نباتات العائلة ، وأغلبها حشائش فلم يتم فحصها للآن .

وتتم عملية تثبيت النتروجين بواسطة البكتريا العقدية التابعة لجنس Rhizobium & Bradyrhizobium داخل العقد الجذرية، حيث تعيش هذه الميكروبات مع النباتات البقولية معيشة تكافلية (تبادل المنفعة)،فالنبات يمد الميكروب بما يحتاجه من المواد العضوية وغير العضوية اللازمة له ، بينما تمد الميكروبات النبات بالمواد النيتروجينية ، وذلك بأن تثبت نتروجين الهواء الجوى فى النبات . وهذه الميكروبات تعيش حرة فى التربة الزراعية ويمكن زراعتها كما سبق القول على البيئات الصناعية ، ولكنها فى كلتا الحالتين المذكورتين لاتستطيع أن تثبت النتروجين الجوى ، اذ ان تثبيت الازوت مرتبط بالمعيشة المشتركة للنباتات والميكروبات معا Symbiotic life ، ورغم ذلك فقد تمكن بعض العلماء اخيرا من تنمية ريزوبيا اللوبيا فى بيئة سائلة مناسبة ووسط اكسوجينى مناسب وامكنها تثبيت النتروجين وهى على حالة حرة خارج النبات .

والعقد الجذرية مملوءة بعصير مغذى Nutrient plant juice ، ويمكـــــن انتزاع العقدة من الجذر بسهولة ، وفوائدها عظيمة للنباتات والتربة اذ انها مصدر كبيــر للنتروجين .

وصف الميكروب : (المتكافل الصغير The microsymbiont)

يكون الميكروب فى التربة الزراعية أو البيئات الصناعية عصوى قصير غير متجرثم - سالـــب لصبغة جرام - ميزوفيلى - ينمو جيدا على بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة ، أو المانيتـــول ومستخلص أوراق النبات البقولى المتخصص،حيث ان مستخلص الخميرة أو أوراق النباتات تحتوى على المواد المنشطـة اللازمة للبكتريا ، وتحتوى الميكروبات على حبيبات كروماتين وحبيبـــات من B-hydroxy butyrate (BHB) التى تصبغ مع صبغة Sudan Black ، أما مع الصبغ العادى فانها تظهر غير مصبوغة مما يعطى الميكروب شكلا مخططا banded .

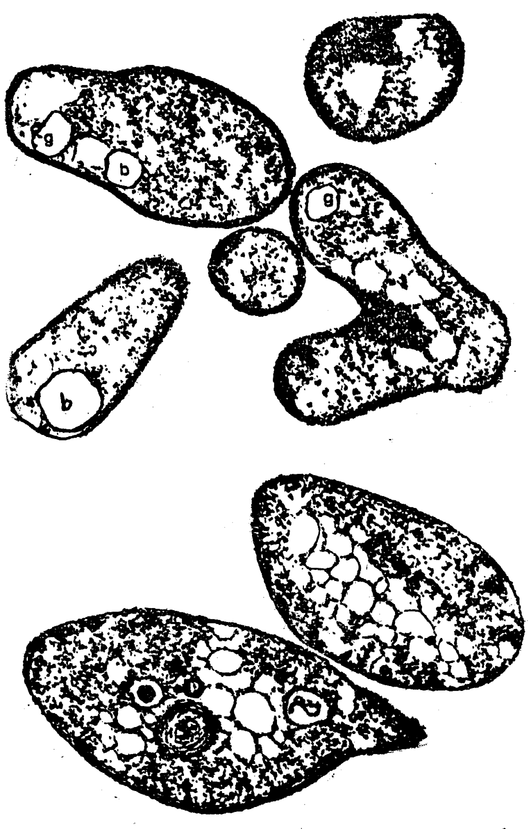
والميكروبات يمكنها ان تحلل العديد من الكربوهيدرات مع تراكم الحامض فى بعـــض الاحيان ، ولكنها لا تكون غازا ، كما أنها أثناء نموها خاصة فى العقد تفرز بعض منشطـــات النمو النباتية مثل مشتقات الاندول Indole وحمض الجبريليك والسيتوكينين Cytokinine.

يظهر الميكروب فى المزارع الحديثة النشطة بشكل عصوى عادة مقاس ٤ × ١ ميكروميتر ، وقد ترى بعض الخلايا فى شكل كروى ، بينما تظهر فى العقد الجذرية بأشكال مختلفة متفرعة أو غير منتظمة (T, Y, L, X, V) وهى معروفة بالبكترويدات Bacteroides ، والاخيرة نادرا ماترى فى المزارع النامية على البيئات الصناعية ، ولكن يمكن القول ان وجـــود السكر او كميات قليلة من الاحماض العضوية أو الجلسرين فى البيئة الصناعية يشجع ظهـــور البكترويدات،فى حين ان اضافة الفوسفات او اللبن يشجع الانواع الكروية أو العصوية على الظهور، وحجم البكترويد يتوقف على نوع السلالة فهو كبير الحجم فى سلالة البسلة ، وصغير الحجم فـى الفـول .

التقسيم الحديث للرايزوبيا :-

طبقا لتقسيم برجى (١٩٨٤) فقد وضعت الرايزوبيا فى المجلد الاول (البكتريا العادية السالبة لجرام) ، القسم الرابع (البكتريا الهوائية العصوية والكروية) وذلك فى عائلــة Rhizobiaceae . تمتاز أفراد هذه العائلة بأنها :

- عصويات ، غير متجرثمة ، متحركة ، سالبة لجرام ، هوائية .
- تستعمل الكثير من الكربوهيدرات مع أفراز مواد لزجة خارج الخلية اثناء نموها علــــى الكربوهيدرات .
- تسبب نموات غير عادية فى خلايا قشرة العائل النباتى .
- تكون عقدا على جذور النبات العائل .



شكل رقم (٧-١) : بكتيرويدات على بيئة صناعية .

Rhizobium trifolii strain TAI induced by 0.5 %
yeast extract in the growth medium.x 42,750
g. glycogen deposits
b. PHBA granules
P. Polyphosphate
(From Hardy & Silver, 1977).

تقسم هذه العائلة الى :

١ - تكون عقدا على جذور البقوليات ، تثبت الازوت الجوى تكافليا فى العقد الجذريـة ، لاتفرز مادة 3-ketolactose .

أ - جنس Rhizobium

سريعة النمو على بيئة آجار مانيتول مستخلص الخميرة ، تكون العقد فى جـذور بقوليات المناطق المعتدلة ، عادة تفرز أحماض فى البيئة .

ب - جنس Bradyrhizobium

بطيئة النمو على بيئة آجار مانيتول مستخلص الخميرة ، تكون العقد فى جـذور بقوليات المناطق الحارة وبعض بقوليات المناطق المعتدلة ، عادة تفرز مواد بالبيئة لها تأثير قلوى .

٢ - جنس Agrobacterium

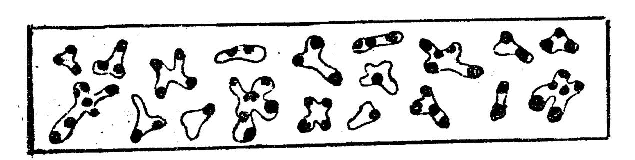
لاتكون عقدا على جذور البقوليات ، ولكنها تسبب تكون نموات غير عادية فى كثير مـن النباتات ، لاتثبت الازوت الجوى .

٣ - جنس Phyllobacterium

تكون عقدا على أوراق بعض النباتات التابعة لعائلة Myrsinaceae&Rubiaceae ، قدرة خلايا هذا الجنس على تثبيت الازوت مازالت موضع نقاش .

وفى الصفحات التالية فعندما نذكر كلمة رايزوبيا فاننا نقصد بها الافراد التابعة لجنسى الرايزوبيوم والبرادى رايزوبيوم .

ونظرا لان الريزوبيا توجد مع ميكروبات اخرى عديدة تشبهها فى الصفات ، فأنه مـن الصعب عدها فى التربة أو بالزراعة على البيئات مباشرة . لذلك قد يستخدم عد الرايزوبيـا بطريقة جداول العد التقريبية (MPN) فى بيئات سائلة بحيث تلقح أنابيب البيئـات بالتخفيفات المناسبة ثم يوضع فيها بذور النبات البقولى ، وبعد الانبات بعدة اسابيع يفحص النبات لوجود العقد على الجذور وتقدر الاعداد من جداول العد التقريبى .



بكتيرويدات من عقد جذرية لنبات البسلة .

(From Alexander, 1977).

تقسيم البكتريا العقدية حسب سرعة النمو :

يمكن تقسيم البكتريا المعزولة على اساس نموها على بيئة مستخلص الخميرة والمانيتول الى :

١ - جنس Rhizobium :

ميكروبات سريعة النمو Fast growing (مثل بكتريا مجموعة البرسيم الحجازى) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ٤ ساعات ، ويصل اقصى نمو بعد ٤٠ - ٧٠ ساعة وأفراد هذه المجموعة تزيد من حموضة البيئة بعد نموها .

٢ - جنس Bradyrhizobium :

ميكروبات بطيئة النمو Slow growing مثل بكتريا مجموعة اللوبيا (Cowpea Brady-rhizobia) ومتوسط عمر الجيل بها حوالى ١٠ ساعات من (٦-١٢ ساعة)، ويصل اقصى نمو بعد ١٠٠ - ١٩٠ ساعة ، وهى تزيد من قلوية البيئة بعد النمو بها ، وتمتاز أفراد ها بأن فلا جلاتها طرفية Polar .

وبذلك نلاحظ أن البكتريا العقدية سريعة النمو تختلف عن بطيئة النمو فى كثير من الصفات المورفولوجية والمزرعية والفسيولوجية بالاضافة الى الفروق السيرولوجية .

وفى التقسيم الحديث توضع البكتريا العقدية (جنس الريزوبيوم والبرادى رايزوبيوم) مع جنس الاجروباكتريوم فى عائلة Rhizobiaceae . والبكتريا العقدية تتشابه عادة مع *Agrobacterium radiobacter* فى كثير من الصفات ، الا انهما يختلفان قليلا فى بعض الصفات المزرعية ، فمثلا تحتاج البكتريا العقدية الى فيتامينات وعوامل نمو فى البيئة بينما تستطيع الاجروباكتريوم النمو فى بيئة بسيطة تحتوى على امونيا كمصدر للكربون وحيد . الا ان الطريقة الاساسية فى تميزهما عن بعضهما هى قدرة جنس Rhizobium & Brady-rhizobium على تكوين العقد الجذرية على النباتات البقولية وعدم قدرة جنس Agrobacterium على ذلك ، وكذلك اختبارات النيتروجيناز .

والاجروباكتريوم ممرض للنبات ، يسبب امراضا مثل التدرن التاجى فى اشجار الحلويات ولا تثبت نتروجين الهواء الجوى .

وتستخدم الان الدراسات السيرولوجية والحساسية للمضادات الحيوية والفاج والصفات الوراثية لالقاء الضوء على تقسيم الريزوبيا .

التعرف على البكتريا العقدية بالاختبارات الفلورسنتية :

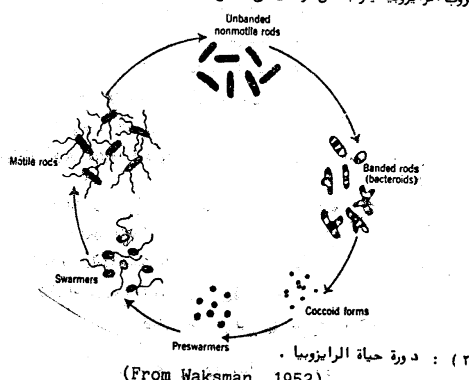
جارى عمل أمصال فلورسنتية تمتاز بدقتها فى الفحص الميكروسكوبى للبكتريا العقدية ، والتعرف عليها مباشرة سواء فى التربة أو الريزوسفير أو فى العقدة المتكونة .

والاساس فى هذه الطريقة هو تفاعل الانتجن (بكتريا الرايزوبيا) مع الجسم المضاد لها فى وجود صبغة فلورسنتية ثم الفحص بميكروسكوب ذو آشعة تحت بنفسجية ، فاذا كان الميكروب الجارى فحصه هو نفس الميكروب المتخصص للجسم المضاد ، فيحدث اتحاد بين الميكروب

والجسم المضاد المصبوغ فيظهر الميكروب مضئ تحت الميكروسكوب ذو الآشعة تحت البنفسجية .

اطوار حياة الميكروب :

لقد وجد أن ميكروب الرايزوبيا يمر بخمس مراحل فى تاريخ حياته (شكل رقم ٧-٢) .



شكل رقم (٧-٢) : دورة حياة الرايزوبيا .
(From Waksman, 1952).

١) الطور الاول : وفيه الخلايا كروية الشكل غير متحركة وتسمى Preswarmer وتلاحظ فى المزارع المحفوظة فى محلول تربة متعادل .

٢) الطور الثانى : كرويات كبيرة غير متحركة تظهر فى وجود أنواع من الكربوهيدرات والفوسفات فى البيئة .

٣) الطور الثالث : وفيه تستطيل الكريات وتكون بيضية الشكل متحركة وتسمى motile swarmer .

٤) الطور الرابع : وفيه تظهر الخلايا عصوية الشكل قليلة الحركة .

٥) الطور الخامس : وتظهر الخلايا غير متحركة وتتكون بها فجوات vaculated stage وتظهر الخلايا محزمة ، ثم تختفى الاحزمة وتتكون الخلايا العادية لتبدأ الطور الاول .

والاطوار الاربعة الاولى تظهر فى التربة ، أما الطور الخامس فأنه يتكون فى العقدة البكتيرية .

التخصص فى البكتريا العقدية :

جنس Rhizobium & Bradyrhizobium المسبب للعقد الجذرية علـــى النباتات البقولية يتضمن أنواعا عديدة،وتختلف الانواع حسب نوع النبات العائل الذى يصيبـــه، فلكل نبات بقولى أو مجموعة من النباتات البقولية جنس معين يكون العقد عليه أما باقى الانـواع فانها غير قادرة على غزو هذا النبات ، أو قد يغزوه ولكنها تكون عقدا ضعيفة غير قادرة علـــى تثبيت النتروجين،وتسمى مجموعة النباتات البقولية التى يغزوها نوع واحد من البكتريا العقديـــة باسم مجموعة تبادلية التلقيح Cross inoculation group ، فمثلا هناك مجموعـــة البسلة pea group ، وتضم البسلة والفول العادى والعدس ... الخ ، والنوع المكـــون للعقد البكترية على هذه المجموعة هو *Rhizobium leguminosarum* ، وبالمثـــل هناك مجموعة البرسيم الحجازى ويغزوها ميكروب *R. meliloti* ومجموعة البرسيم العادى ويغزوها *R. trifolii* وهكذا ، حيث قسمت النباتات البقولية الى سبع مجموعات وبالتالى قسمت البكتريا العقدية الى سبع أنواع والجدول (٧-١) يبين هذه الاقسام .



Well-nodulated legume roots. Left, red clover; right, **soybeans.** شكل رقم (٧-٣) : عقد جذرية على البرسيم وفول الصويا .
(From Alexander, 1977).

جـدول رقم (٧-١) : المجموعات النباتية وأنواع البكتريا المتخصصة فى اصابتها .

اسم المجموعة	نوع البكتريا	النباتات التى تضمها المجموعة
أ) مجموعات سريعة النمو ؛ g. Rhizobium		
مجموعة البرسيم الحجازى Alfalfa group	R. *meliloti*	البرسيم الحجازى ، الحلبة ، النفل الحندقوق .
مجموعة البرسيم Clover group	R. *trifolii*	البرسيم المصرى ، البرسيم الاحمر ، البرسيم القرمزى .
مجموعة البسلة Pea group	R. *leguminosarum*	البسلة ، بسلة الزهور ، العدس ، الفول العادى .
مجموعة الفاصوليا Bean group	R, *phaseoli*	الفاصوليا .
ب) مجموعات بطيئة النمو ؛ g. Bradyrhizobium		
مجموعة الترمس Lupine group	B. *lupini*	الترمس .
مجموعة فول الصويا Soybean group	B. *japonicum*	فول الصويا .
مجموعة اللوبيا Cowpea group	B. *sp.*	اللوبيا ، فول السودانى ، فاصوليا الليما ، اللبلاب .

وبالرغم من أن النوع الواحد من البكتريا العقدية يغزو جميع انواع النباتات البقولية التابعة لمجموعته التبادلية، الا ان هناك سلالات بكتيرية تكون أكفأ في تكوين العقد وتثبيت النتروجين على نبات معين في داخل المجموعة عن النباتات الاخرى، وحتى النوع الواحد من النباتات البقولية قد يصيبه عدة سلالات تختلف في كفاءتها في تثبيت النتروجين فبعضها ذو كفاءة عالية وبعضها متوسط وبعضها ضعيف .

ويجب ان نلاحظ ان انواع البكتريا العقدية السبعة الرئيسية لا يمكن تمييزها عن بعضها بسهولة بالصفات المورفولوجية أو المزرعية أو الفسيولوجية ، وان الطريقة الوحيدة لتمييز انواع البكتريا العقدية هي اختبار قدرتها على تكوين العقد على مختلف انواع النباتات البقولية ، وقد وجد أن بروتينات كل مجموعة متشابهة ، وذلك عندما اختبرت سيرولوجيا بطريقة الترسيب Precipitin test ، ويجرى الآن التمييز بين الانواع السيرولوجية باستخدام طريقة التجمع agglutination وذلك باضافة سيروم مضاد antiserum من سلالات معروفة الى خلايا البكتيرويد المفصولة من العقد .

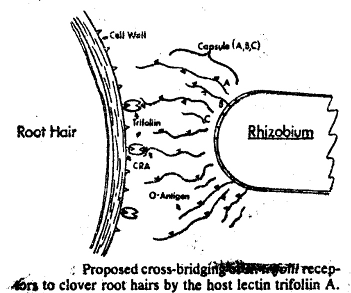
وانتيجينات خلايا الريزوبيا الجسمية Somatic antigens تتكون من Phospholipid polysaccharides complex ، وتتشابه تلك الانتيجينات في *R. trifolii* مع تلك الموجودة في مجموعة البكتريا المعوية Enterobacteriaceae في احتوائها على 2 keto-3-deoxy-octonate وليبيدات ، وجلوكوز ومانوز وفيكوز Fucose، ولكن تختلف عنها في ان *R. trifolii* تحتوى على حمض الجلوكورونيك . ويعتقد ان وجود اشكال بنائية معينة من السكريات في تلك الانتيجينات التي تمثل السطح الخارجي للرايزوبيا ، يلعب دورا في عملية التخصص الخاصة بعدوى جذور البقوليات .

مراحل تكوين العقدة البكتيرية : STAGES OF NODULE FORMATION

تبدأ عملية تكوين العقدة البكترية بعد انبات البذرة مباشرة، حيث تفرز جذور النبات افرازات تشجع نمو الميكروبات حوله وتشجع البكتريا العقدية الموجودة في التربة حول الجذور وتتكاثر حوله، فاذا كانت من النوع المتخصص لهذا النبات فأنها تلتصق بالجذر، ولقد اثبتت الدراسات أن البكتريا العقدية يوجد على سطحها نوع من السكريات المعقدة متخصصة لنوع النبات البقولي الذى تغزوه . فاذا كانت البكتريا العقدية من النوع المتخصص للنبات المزروع فأنها تلتصق به بواسطة السكريات المعقدة المتخصصة ، أما اذا لم يكن من النوع المتخصص للمجموعة النباتية التي يتبعها النبات المزروع فأن الالتصاق لا يتم أو يكون ضعيفا ، وبعد الالتصاق تبدأ عملية الغزو .

وهناك آراء عديدة تفسر الاسباب التي تساعد الميكروب المتخصص على غزو جذور النبات العائل . ومن هذه الآراء :

١ - يساعد على انحناء الشعيرة الجذرية وغزو طرفها بالبكتريا المتخصصة ماتفرزه بذور النبات العائل اثناء نموها - فى حالات كثيرة - من مواد تسمى Lectins (ليكتينات) ، وهى عبارة عن مواد بروتينية ذات قابلية متخصصة للارتباط بالسكريات المعقدة الموجودة على سطوح البكتريا العقدية . وفى حالة البكتريا العقدية فانه يحدث تجاذب بين السكريات التى على سطحها وبين الليكتينات المنتشرة على سطوح جذور النبات البقولى (أو الشعيرة الجذرية) وبذلك تلتصق البكتريا بجذر عائلها المتخصص له دون غيره . وعلى هذا فان ليكتين البرسيم العادى والمسمى Trifoliin متخصص للاتحاد مع الريزوبيا *R. trifolii* ولصقها بجذور البرسيم ، ويهمنا ان نوضح ان السكريات



: Proposed cross-bridging of *R. trifolii* receptors to clover root hairs by the host lectin trifoliin A.

شكل رقم (٧-٤) : ارتباط مستقبلات الرايزوبيا بلاكتين الشعيرات الجذرية للبرسيم . (From Klug & Reddy, 1984)

التى تفرزها الريزوبيا متعددة منها سكريات العلبة Capsular polysaccharides واهم مكوناتها الجلوكوز والجلاكتوز والفيكوز والمانوز واحماض الجلوكورونيك والجلاكتورونيك ، ومنها سكريات ليبيدية تحتوى على سكريات واحماض يورونية متحدة مع ليبيدات وتتميز باحتوائها على : Uronic acids, fucose, rhamnose, methylated 6-deoxyhexose, methylated hexose amine, methylated heptose. بالاضافة الى ماتفرزه خلية الريزوبيا من وحدات ذات اوزان جزيئية صغيرة من الجلوكان .

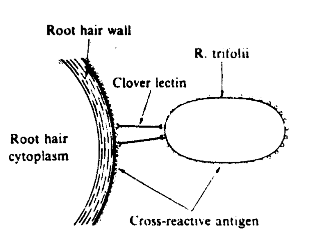
٢ - ومما يساعد ايضا على غزو الميكروب المتخصص للعائل ، ماتفرزه جذور العائل من انزيم Polygalacturonase . ويفرز هذا الانزيم - فى رأى بعض الباحثين - نتيجة لحث البكتريا المتخصصة المهاجمة بما تحويه من سكريات معقدة فى جدارها الخارجى .

٣ - ويساعد ايضا فى عملية الغزو ، ماتفرزه القمة النامية لطرف الشعيرة الجذرية عند مكان الاصابة من مادة سكرية تسمى كالوز Callose وهى بيتا ١/٣ جلوكان B-1,3 glucan



Attachment of *Rhizobium trifolii* 0403 to a clover root-hair tip after 15 min. incubation. as examined by scanning electron microscopy (from F.B. Dazzo & W.J. Brill (1979) *J. Bacteriol.* 137, 1362..

شكل رقم (٧-٥) : التصاق الرايزوبيا بطرف الشعيرة الجذرية للبرسيم (بعد ١٥ دقيقة من التحضين - الفحص بواسطة SEM) .



Model of cellular recognition during attachment of *Rhizobium trifolii* to clover root hairs (from F.B. Dazzo & D. Hubbell (1975) *Appl. Microbiol.* 30, 1017.

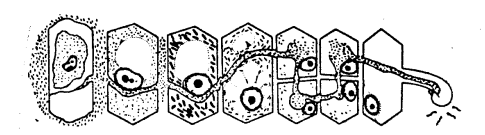
شكل رقم (٧-٦) : نموذج يوضح التصاق الرايزوبيا بطرف الشعيرة الجذرية للبرسيم .

هذه المادة تفرزها جذور النباتات الحديثة النمو بتأثير البكتريا العقدية المتخصصة بما تفرزه من مادة الاندول استيتك اسيد، وهذه المادة (الكالوز) تختفى فى الجذور المسنة .

وقد تمكن بعض العلماء من تقسيم الاطوار التى توجد بها البكتريا العقدية فى النبات الى علاقة كالاتى :

الطور الاول : Controlled parasite

غزو الميكروب للجذور : يبدأ تكوين العقدة مع تكوين الاوراق الاولى للنبات ، وقد دلت الابحاث على انه فى هذا الوقت تفرز جذور النبات مواد تعمل على تكاثر البكتريا المحيطة بها . وبذلك يتكون بالقرب من الشعيرة الجذرية مجموعة كبيرة من بكتريا العقد الجذرية، حيث تفرز بدورها مادة منشطة للنمو (مثل اندول حمض الخليك الذى تمثله البكتريا بالاكسدة من مادة التربتوفان المفرزة من الجذور)، وهذه تسبب نمو الشعيرة الجذرية والتوائها ، فتغزو هذه الميكروبات طرف الشعيرات الجذرية من منطقة الانحناء لانها اضعف نقطة فى الشعيرة .



شكل رقم (٧-٧) : انتشار خيط العدوى فى خلايا الجذر .
(From Waksman, 1952).

وقد وجد انه اذا كان الميكروب هو من نفس النوع species الذى يصيب النبات فأنه يعمل هذا الانحناء ويكون العقدة ، أما اذا كان من نوع آخر فأنه يحدث الانحناء فقط ولا يكون العقدة ، بمعنى ان الميكروب المختص باصابة جذور الفول مثلا يحدث الانحناء والعقدة فى نبات الفول فقط ، ولكنه يحدث الانحناء فقط فى نبات البرسيم ، ثم يبدأ فى تكوين (خيط العدوى) Infection thread بعد الاصابة ، وهو مكون من البكتريا محاطة بانبوبة مكونة من السليلوز وهيميسيليلوز وبكتين وهذه الانبوبة يكونها النبات المصاب .

يستمر خيط العدوى فى نموه بمتوسط سرعة حوالى ٧ ميكرومتر / ساعة ، وهو معدل يعادل سرعة نمو الشعيرة الجذرية نفسها .

يختلف خيط العدوى في السمك باختلاف النبات العائل . ولكنه يزداد دقة كلما كان الجذر رفيعا ، ويستمر في النمو مستقيما وينحني فقط ليتبع انحناء جدار الشعيرة الجذرية . وفي المعتاد يتكون خيط عدوى واحد داخل الشعيرة الجذرية ، ولكن قد يتكون احيانـــا خيطين ونادرا مايتكون ثلاثة خيوط .

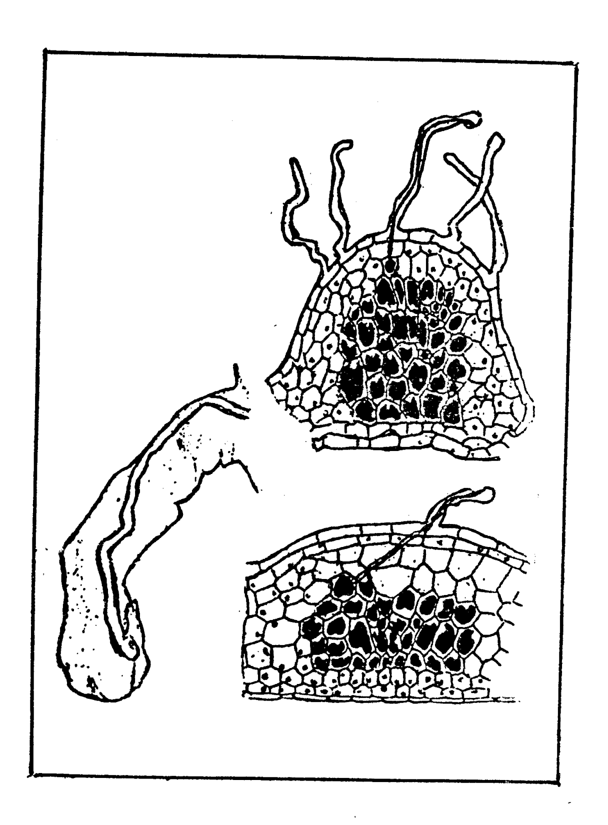
يستمر خيط العدوى في سيره في الشعيرة الجذرية حتى يصل الى خلايا القشرة للجذر فيخترقها ، ثم يتفرع خيط العدوى ويغزو خلايا اخرى ويختفي الخيط وتتجمع خلايا البكتريا حول انوية خلايا قشرة الجذر . تنشط الخلايا المصابة وتنقسم حاملة خلايا البكتريا الجديدة. وتتكون العقدة من الانقسام العزير لخلايا النبات ومن تضخم هذه الخلايا ايضا . كما أن خلايا النبات المجاورة للخلايا المصابة ينتابها كبر في الحجم ونشاط في الانقسام ايضـــا . ويعلل انقسام الخلايا المجاورة المذكورة الى ان خلايا البكتريا ايضا تفرز هرمون Hetero - auxin ينتشر اليها فيسبب هذا النشاط ويؤيد ذلك ان العقدة وجدت غنية بهـــذا الهرمون، ويلاحظ بأنه اذا ما دخلت احدى سلالات الريزوبيا الى داخل النبات فانها تمنـــع دخول السلالات الاخرى .

ولقد اكتشف حديثا ان الخلايا النباتية الموجودة في وسط العقدة محتوية على ضعـــف عدد الكروموسومات الموجودة اصلا بخلايا النبات العادية ، ولقد وجدت هذه الظاهرة فـــي خلايا العقد الجذرية للنباتات البقولية سواء الثنائية أو ذات التضاعف الكروموســـــــــــي Polyploidy، ويحتمل أن ينشأ هذا النسيج المحتوى على ضعف عدد الكروموســـــومات disomatic من خلايا ضعيفة موجودة اصلا بالجذر ، ولكن اجبرت على الانقســـــام كنتيجة لملامستها او اقترابها من خلايا البكتريا .

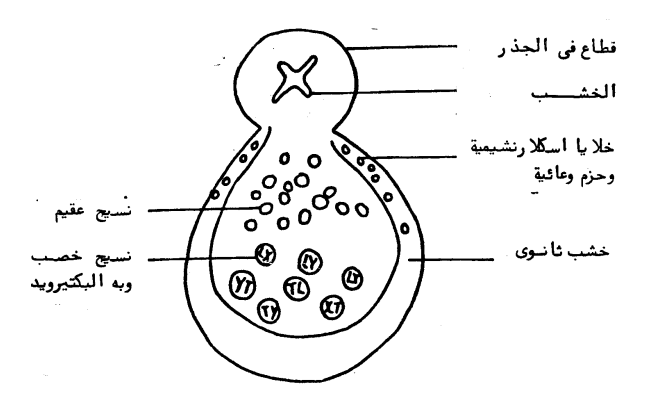
وعموما فأن عدد العقد البكتيرية على جذر النبات يحدده العلاقة بين ميكـــــروب الريزوبيا والنبات العائل ، ومدى التنافس بين العقد على نواتج التمثيل الضوئي للعائـــل ، ومدى انتشار وتوزيع هرمونات النبات .

وتتكون العقدة عادة من خلايا القشرة بالجذر كما في معظم النباتات مثل البسلـــــــة والبرسيم والبرسيم الحجازي والفول ، غير أنه في بعض النباتات الاخرى مثل الفول السودانــي يصل خيط العدوى مخترقا القشرة الى البرسكيل والذي تتكون العقدة من انقسام خلايـــاه . ويتم تكوين العقدة على الجذر في مدة لا تقل عن ١٥ يوم من بدء الاصابة .

وعندما تتكون العقدة تظهر الحزم الوعائية في المحيط الخارجي للعقدة التي تتصـــــل بالحزم الوعائية الاصلية للجذر . وخلال هذه الاوعية تنتقل المواد العضوية وغير العضوية الى العقدة ، كذا تنتقل منها المواد التالفة الناتجة من تمثيل الميكروبات للاغذية ، وايضا ينتقـــل خلالها النتروجين الممثل في العقدة الى النبات .



شكل رقم (٧-٨) : المراحل التى يمر بها خيط العدوى فى عقدة جذرية .
(From Taha & Mahmoud, 1966).



شكل رقم (٧-٩) : قطاع فى جذر نبات بقولى وعليه عقدة جذرية .

ويلاحظ ان نصف العقدة يوجد به الميكروبات ، أما النصف الآخر فخالى منها ويسمـــى النصف العقيم، وشكل الميكروبات فى العقدة الحديثة السن تقريبا عصوى ، ولكن فى العقـــدة الناضجة توجد البكتريا على هيئة حروف مثل T, L, Y, X, V وغيرها،يسمى هـــذا الطور Bacteroids.وعند صبغها وفحصها ميكروسكوبيا يشاهد انها لاتصبغ بانتظـــام اذ يلاحظ وجود مناطق بيضاء خالية من الصبغة ، ولقد وجد انها تتكون من B-hydroxy- butyrate .

وتتم عملية تثبيت النتروجين الجوى فى طور البكتيرويد لان الخلايا البكتيرية فى هذا الطور تحتوى على الانزيم المثبت للنتروجين وهو انزيم النتروجينيز .

تختلف العقدة فى الشكل والحجم والتركيب وطريقة النمو باختلاف العائل والوسط وطريقة ادائها لوظيفتها،وعموما فمن حيث الشكل فأنه يوجد شكلين للعقدة ،الكروية كما فى نبـــات Desmodium والمستطيلة كالموجودة فى نبات البرسيم ، وهى عقدة لها قمة نامية تستطيل طوليا وقد يحدث لها تفرعات جانبية .

الطـور الثانـى :

تبادل المنفعـة : Symbiosis

هنا تظهر المعيشة التكافلية أو معيشة " تبادل المنفعة " Symbiosis حيـــث تمد البكتريا النبات بالمواد النتروجينية المثبتة ، ويمد النباتات البكتريا بالمواد الكربوهيدراتية ،

وتعتبر البكتريا داخل الخلايا فى طور Bacteroids وتمكث فى العقدة الجذرية مـــــدة سبع اسابيع تقريبا .

وتحول الريزوبيا الى طور الباكترويد يكون مصحوبا بتكون مادة شبيهة بالهيموجلوبيــــن بالعقدة تسمى Leg haemoglobin تلعب دورا هاما فى تثبيت النتروجين وتتحكـــم جينات النبات فى تكوين هذه المادة ، بينما تتحكم جينات الريزوبيا فى تكوين النظام الخاص بتثبيت النتروجين .

وهذه المادة من أنواع الهيموبروتين وتتكون فقط فى العقد الجذرية المحتوية علـــى بكترويد . وتكتسب العقدة الجذرية النشطة لونا احمر وردى Pink بسبب احتوائها علـــى هذه الصبغة المحتوية على الحديد .

ولقد وجد أن كمية الهيموجلوبين فى العقدة الجذرية ترتبط ارتباطا موجبا بكميـــــة النتروجين المثبتة ، ونظرا لانه يمكن تقدير الهيموجلوبين بطرق ضوئية Optical density ، فانه يفضل استخدام هذه الطريقة على طرق استخدام الوزن الطازج للعقد البكترية كدليـل جيد للقدرة على تثبيت الازوت وذلك عند مقارنة نباتات ذات اعمار متساوية .

اذا لم تكن الميكروبات متخصصة اى سلالة غير السلالة التى تصيب النبات،فأن العقــــدة تمكث ٧ - ١٠ أيام ولا يتكون فى هذه الحالة هيموجلوبين Leg hemoglobin ، وربما نشاهـــد نوعى العقد المذكورين على النبات الواحد ، وتسمى العقدة المتكونة عن سلالة غير متخصصـــة أو غير فعالة uneffective strain بالعقدة الكاذبة pseudo-nodule ، وقـــد تتكون احيانا عقد ضعيفة هزيلة ولكنها صادقة ، ويرجع ذلك الى :

١) **كثرة النترات فى التربة :** فهذه تكون نموا خضريا كبيرا وتتجه كل الكربوهيدرات الناتجـة من التمثيل الكربونى للنبات الى تكوين هذا النمو الخضرى بدلا من ان تصل للبكـــتريا لامدادها بالطاقة اللازمة .

٢) **عدم وجود اضاءة كافية :** الامر الذى يسبب قلة ورود الكربوهيدرات الى العقد الجذرية نتيجة لضعف التمثيل الكربونى .

٣) عدم وجود كمية كافية من المعادن النادرة مثل البورون والموليبدينم .

الطـور الثالث : Uncontrolled parasite

بعد حوالى سبعة اسابيع من تكوين العقدة البكترية يتحول الميكروب من معيشة تبـادل المنفعة الى متطفل بعد ان تقل المواد الغذائية الواصلة الى العقدة،فيفرز الميكروب انزيــم البكتنيز Pectinase الذى يذيب الصفيحة الوسطى للخلايا البرانشيمية التى يسكن فيهـــا وتنفجر العقدة بعد ذلك ، ويخرج الميكروب الى التربة الزراعية . وفى رأى آخر أنه فى وقت الازهار أو بعده بقليل تصل درجة تركيز هرمون (الاوكسين Auxin) الى قمتها،وعندئـــذ

تتحلل العقدة ويصبح لونها اخضر أو بني وتختفي البكتيرويدات bacteroids ثم تنفصل بقايا العقدة بطبقة من الفلين بعدها تتآكل وتتحلل .

العلاقة الفسيولوجية بين الريزوبيا والنبات العائل :

بفرض ان الظروف البيئية المحيطة بالنبات البقولي العائل (المتكافل الكبير marcrosymbiont) والبكتيريا المثبتة (المتكافل الصغير microsymbiont) مناسبة فأن عملية تثبيت النتروجين تعاونيا تتوقف على العلاقة ما بين البكتيريا والعائل .

١) فالريزوبيا في طور البكتيرويد تحتوى على انزيم النيتروجينيز اللازم لاختزال النتروجين الى امونيا .

٢) كما تحتوى البكتيرويد على بعض الانزيمات الخاصة بالقيام بالخطوات الاولى لتحويل الامونيا الى احماض امينية كالجلوتاميك .

٣) ولكي يتم ذلك فأن العائل يمد البكتريا بما تحتاجه من مصادر كربونية (كالسكريات والاحماض العضوية) اللازمة للتمثيل ولانتاج الـ ATP .

٤) كما ان الاكسجين يدخل الى الانسجة الجذرية بكميات كافية لحفظ خلايا العائل والبكتيرويد دون ان يثبط من نشاط النيتروجيناز ، وينظم هذه الاحتياجات هيموجلوبين العقدة .

٥) كما ان نواتج تثبيت الازوت تنتقل عن طريق الحزم الوعائية من العقدة الى مراكز تكوين البروتين في النبات العائل وبذلك يمتنع تجمع الامونيا بالعقدة التي تعتبر مادة مثبطة لانزيم النتروجيناز .

المواد المنتجة للطاقة والناقلة للالكترونات بالعقدة :

يقوم النبات العائل عن طريق التمثيل الضوئي بتوفير المواد المولدة للطاقة (مثل السكريات والاحماض العضوية) الذاهبة الى العقدة البكتيرية ، وتمثل هذه المواد عن طريق دورة حمض الستريك لانتاج الطاقة اللازمة .

وأهم المواد المخزنة داخل أغلب العقد البكتيرية هي مادتي الجليكوجين والـ Poly B-hydroxy butyrate ،والمادة الاخيرة تصل نسبتها بالعقدة الى حوالى ٥٠٪ من وزنها الجاف ويتكون هذه المادة يناسبه الامداد المحدود من الاكسجين الذى يصل الى انسجة العقدة ، ويبدو ان هذه المواد تمثل بالعقدة كمصادر للطاقة وقت الحاجة اليها .

أما من حيث المواد الناقلة للالكترونات بالعقدة فأن بكتريا العقدة تحتوى على سيتوكروم وفلافوبروتين Cytochrome & Flavoprotein وهذه المواد تعمل على نقل الالكترونات الى انزيم النيتروجينيز .

الاحتياج الاكسجيني لبكتريا العقدة ودور الهيموجلوبين :

الاكسجين ضروري لكي تقوم كل من خلايا العائل والبكتريا بنشاطها ، وتزيد كمية النتروجين المثبت بالعقدة بزيادة تنفس الخلايا ، اذ ان عملية التثبيت تحتاج الى الـATP الناتج من هذا التنفس الهوائي ، غير ان زيادة تركيز الاكسجين بالعقدة الى مستواه بالهواء الجوي يعتبر مثبطا لعملية التثبيت ، حيث ان انزيم النيتروجينيز حساس له .

وينظم من تركيز الاكسجين داخل العقدة مادة Leg hemoglobin الموجودة بها ، اذ ان لها قابلية كبيرة للارتباط بالاكسجين High affinity for O_2 وعند زيادة ضغط الاكسجين داخل العقدة تحدث زيادة في الهيموجلوبين المؤكسد Oxygenated Leg hemoglobin وهذا يفسر قلة تركيز الاكسجين في خلايا العقدة رغم زيادته خارجها .

ويتشابه هيموجلوبين العقدة في نواحي كثيرة مع هيموجلوبين وميوجلوبين الثدييات ، في كونه منظما لحركة الاكسجين بالعقدة بارتباطه به او تحرره منه ، ويثبط عمله وجود CO الذي يمنع ارتباطه بالاكسجين وبالتالي من عملية التثبيت .

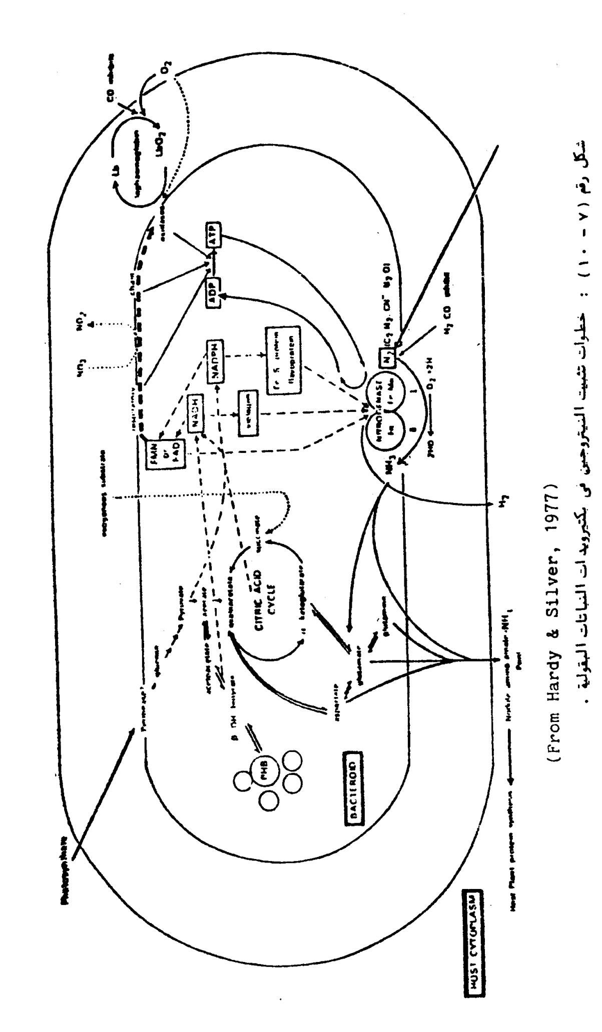
واثبتت الدراسات السيتوكيمائية ان هيموجلوبين العقدة يوجد في الاغلفة الغشائية المحيطة بالبكترويد ، أي يوجد خارج البكتريا بين الخلايا الميكروبية وجدار النبات المحيط بالعقدة - وبذلك يصبح ملاصقا لاسطح تلك البكتريا مما يزيد من كفاءته المتعلقة بتنظيم احتياج البكترويد للاكسجين ، وموفرا في نفس الوقت الحماية اللازمة لانزيم النيتروجينيز من الاكسجين .

اليوريدات Ureides :

اليوريدات هي عبارة عن مركبات عضوية نتروجينية تحتوي على واحدة أو أكثر من مجموعة اليوريدو Ureido group (NH_2-CO-NH) الناتجة من اليوريا . ومن أهم هذه اليوريدات في النظم البيولوجية هي يوريدات حمض الجليوكسيليك : Allantoin & Allantoic acid .

توجد اليوريدات في افرازات الحيوانات ، وتوجد كمكونات أساسية في كثير من النباتات خاصة في البقوليات المكونة للعقد البكتيرية ، ففي النباتات البقولية ، فان معظم النتروجين المثبت بالعقد الجذرية ، ينتقل الى النبات العائل في صورة اميدات amides مثل الاسباراجين ، جلوتامين او في صورة يوريدات لتدخل في التمثيل البروتيني للنبات .

تمثل اليوريدات (مثل allantoin and allantoic acid) النواتج الاساسية التي تكونها العقدة البكتيرية بالنبات البقولي في بداية ما يتكون من مركبات



(From Hardy & Silver, 1977)

شكل رقم (٧ - ١٠) : خطوات تثبيت النيتروجين فى بكتيرويدات النباتات البقولية .

آزوتية نتيجة عملية التثبيت النتروجينى major products of recently fixed nitrogen . وعلى سبيل المثال فقد وجد أن اليوريدات تكون من ٦٠ - ٩٠٪ مــن النتروجين الكلى الموجود فى الافرازات الآزوتية المثبتة بأوعية نبات فول الصويا .

ALLANTOIN (C:N=1)

ASPARAGINE (C:N=2)

ALLANTOIC ACID (C:N=1)

GLUTAMINE (C:N=2.5)

CITRULLINE (C:N=2)

γ METHYLENE GLUTAMINE (C:N=3)

CANAVANINE (C:N=1.25)

Molecular structure of some nitrogenous solutes found in xylem sap.

شكل رقم (٧-٢٦) : تركيب بعض المركبات النتروجينية فى عصارة الاوعية الخشبية .

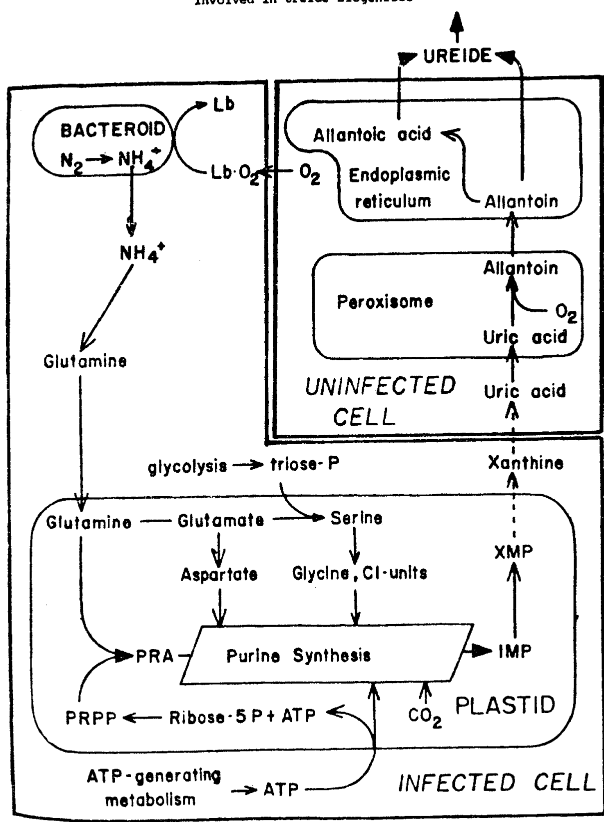
من اليوريدات الهامة التى وجدت بالنباتات الـ Citrulline الذى يعتـــــــبر مركب وسطى فى تمثيل الارجينين . وقد وجد هذا اليوريد فى عصير الاوعية الخشبية لبعض البقوليات وغير البقوليات المثبتة للازوت تعاونيا مثل Alnus, Myrica .

تتكون اليوريدات أما من تكثيف اليوريا مع مركبات ثنائية الكربون glyoxylates أو من اكسدة البيورينات Purines . ويرجح تكون اليوريدات بالعقدة البكتيرية عن طريــــــق اكسدة البيورينات وجود الانزيمات الخاصة بهذا التمثيل بالعقدة البكتيرية ، مثل :

Xanthine dehydrogenase, ureate oxidase, allantoinase, phospho ribosyl pyrophosphate (PRPP) synthetase, PRA phospho riposyl amino transferase, IMP dehydrogenase, PRAI phospho ribosyl amino imidazole carboxylase.

بالاضافة الى الانزيمات الخاصة بتمثيل الامونيا والبيورين .

والشكل (٧-١٢) يبين الخطوات المقترحة لتمثيل اليوريدات بالخلية .



PRPP : Phospho ribosyl pyrophosphate synthetase.
PRA : Phospho ribosyl amino transferase.
Uninfected cells represent about half of cells of the nodule.

شكل رقم (٧-١٢) : تكون اليوريـدات .

(From, Veeger and Newton, 1984).

أهمية العقد الجذرية :

تقوم بكتيريا العقد الجذرية بتثبيت نتروجين الهواء الجوى وهى مهمة للنباتات منذ بدأ حياتها الى قرب حصادها . حيث انها تمد النبات بما يحتاجه من نتروجين فتعطى النباتات بالتالى غلة كبيرة بدون تسميد نتروجينى ، وكذا تمد التربة بكمية كبيرة من النتروجين، والبكتريا لا يمكنها تثبيت النتروجين بمفردها ولكن لا بد من وجود النبات (تبادل المنفعة) للقيام بالعملية .

وبالنسبة لوجود هذه البكتريا فى العقد على جذور النباتات البقولية نجد ان هذه النباتات غنية بالنتروجين،فمثلا نرى ان ١ طن دريس من البرسيم الحجازى يحتوى على ١٣٠- ١٥٥ كجم بروتين،بينما ١ طن من الحشائش أو تبن شعير أو قمح يحتوى على ٥٠ - ٦٥ كجم بروتين،ويتضح مما تقدم أن البقوليات غنية بالبروتينات .

وذكر ايضا ان مقدار مايثبت من نتروجين الهواء الجوى بالنسبة لهذه النباتات يختلف باختلاف نوع النبات،فنجد ان محاصيل المراعى مثل البرسيم الحجازى تثبت كمية من النتروجين تفوق كثيرا ماتثبته محاصيل البذور مثل الفول والبسلة وفول الصويا . وعلى فرض ان البرسيم الحجازى يثبت ١٠٠ وحدة آزوت فيمكن ترتيب بعض المحاصيل البقولية كالآتى :

برسيم حجازى ١٠٠ وحدة - فول صويا ٤٢ وحدة - الفول البلدى ٢٣ وحدة - البسلة ١٩ وحدة . وقد وجد ان البرسيم الحجازى يثبت تحت احسن الظروف ما مقداره ١١٥ كجم من النتروجين للفدان الواحد سنويا ، ولعل هذا الاختلاف فى مقدار ماتثبته المحاصيل البقولية من الازوت يرجع الى اختلاف مدة مكثها فى الارض ، كما قد يرجع الى اختلاف نظام مجموعها الجذرى ، فمحاصيل البذور كالفول التى لها نظام جذرى محدود والذى تتكون عليه العقد الجذرية خلال فترة قصيرة من الزمن،يثبت كمية من الازوت تقل عما تثبته المحاصيل البقولية،التى تبقى فى الارض مدة طويلة والتى لها نظام جذرى يتجدد على مدار موسم النمو والذى تتكون عليه عقد جذرية باستمرار ولفترة طويلة من الزمن .

اما مقدار ماتستفيده التربة من النتروجين المثبت بواسطة النباتات البقولية فأنه يختلف باختلاف الطريقة التى يعامل بها المحصول عند حصاده ، فاذا حرث المحصول البقولى فى الارض كسماد اخضر ، فان التربة تستفيد من جميع النتروجين المثبت ، اما اذا أكلت الحيوانات المحصول أو حول الى سيلاج لتغذيتها ثم اضف السماد الناتج من هذه الحيوانات الى التربة،فان مقدار النتروجين الذى يضاف الى التربة فى هذه الحالة يتراوح مابين ٥٠ - ٨٠ ٪ من مجموع النتروجين المثبت .

اما اذا ازيل المحصول بعيدا عن التربة فان مقدار الاستفادة فى هذه الحالة يكون بالقدر الذى يتبقى من هذه المحاصيل بعد حصادها ، بما فى ذلك الجذور وماعليها من عقد جذرية وهنا تختلف الاستفادة من محصول لآخر ، فالبقوليات مثل البرسيم ـ التى لها مجموع جذرى كبير فأن مايتبقى منها عقب الحصاد قد يحتوى على مايقرب من $\frac{1}{3}$ ما يحتويه النبات من آزوت وهذه الكمية لاتعوض فقط مايكون قد استولى عليه النبات من نتروجين التربة ، بل تزيد من كميته فيها ، أما المحاصيل الاخرى مثل فول الصويا والسلة التى تخلع معظم جذورها عند الحصاد فأن مايتبقى من مخلفاتها لا يزيد كثيرا عن $\frac{1}{6}$ مجموع النتروجين الكلى فى النبات وهى بذلك قد تسلب الارض بعض ما قد يوجد بها من النتروجين .

تبلغ المساحة التى تزرع سنويا بالبقوليات نحو ٤٠ ٪ من مجموع المساحة الكلية فى مصر أى حوالى ٢٫٥٠٠٫٠٠٠ فدان ، وعلى فرض ان الفدان يعطى فى المتوسط نحو طن من الوزن الجاف ، بما فى ذلك الحبوب والسوق والاوراق والجذور،وانها تحتوى فى المتوسط على ٢ ٪ نتروجين ، فيكون مقدار النتروجين الذى يحتوى عليه النباتات البقولية الناتجة من هذه المساحة يعادل ٥٠٫٠٠٠ طن من النتروجين،وعلى فرض ان ½ هذا الازوت تحصل عليه النباتات البقولية من الجو فتكون الكمية المثبتة من الجو هى ٢٥٫٠٠٠ طن نتروجين أو ما يعادل ١٫٦٠٠٫٠٠٠ شوال من السماد النتراتى الذى يحتوى على ١٥ ٪ أزوت،نصفها يعود الى الارض وهو يشمل ما تتركه المحاصيل من جذور وخلافه وهو ما يعادل ⅓ وزن النبات مضافا اليه ما يضاف الى التربة على صورة اسمدة عضوية تنتج من تغذية الانسان والحيوان على هذه البقوليات .

وعموما فقد وجد بالتجربة ان تكلفة التلقيح الميكروبى للفدان لا تتجاوز ٥ ٪ من قيمة الاسمدة الازوتية التى تستخدم حاليا وذلك بخلاف العائد الاقتصادى الناشئ عن زيادة الانتاج من التخصيب الميكروبى .

الرايزوبيا المكونة لعقد على الساق : Stem nodulating Rhizobium

أول من لاحظ تكون عقد بكتيرية على سوق البقوليات ، لها القدرة على تثبيت الازوت الجوى هو العالم الهولندى(Hagerup)* عام ١٩٢٨ ، حيث لاحظ تكون هذه العقد على النبات البقولى *Aeschynomene aspera* ، وهو نبات بقولى ينمو فى المياه الضحلة بنهر النيجر .

وفى عام ١٩٨١ تمكن(Dreyfus & Dommergues)* من اثبات وجود عقد بكتيرية من الرايزوبيا مثبتة للازوت على كل من جذر وساق النبات البقولى *Sesbania rostorata* النامى فى اراضى السنغال . وهو نبات حولى استوائى سريع النمو ، حيث يصل طوله لمسافة ٣-٥ م فى خلال ٤ شهور . وبذلك فان هذا النبات يحتوى على عقد بكتيرية تزيد بمقدار ٥ - ١٠ أضعاف ما تحتويه النباتات البقولية الاخرى التى لا تكون عقدا على الساق . ويمكن لهذا النبات ، اذ ما توفرت الظروف البيئية والمناخية المناسبة من أن يثبت حوالى ١٠٠ كجم ازوت / فدان فى ٢ شهر ، ولذلك فأنه فى تلك البلاد يستعمل كسماد اخضر قبل زراعة الارز فى الاراضى الغدقة الفقيرة فى محتواها الآزوتى .

وحتى الآن ، فأن المعلومات المتوفرة الخاصة بتكون عقد بكتيرية من الرايزوبيا على سوق البقوليات ، تشير الى وجودها فى ثلاثة أجناس هى Sesbania, Neptuna & Aeschynomene وجميعها لها القدرة على النمو فى الاراضى الغدقة .

وتقسم الرايزوبيا التى تكون عقدا على الساق ، حسب العائل الذى تتعايش معه الى :-

1. *S. rostorata* group.

وهى من النوع السريع النمو (عمر الجيل ٣ ساعة) وان كان لها بعض الصفات الفسيولوجية لرايزوبيا اللوبيا R. cowpea .

2. *Neptuna* group.

وهى من النوع السريع النمو ايضا وتشبه فى صفاتها *R. meliloti* .

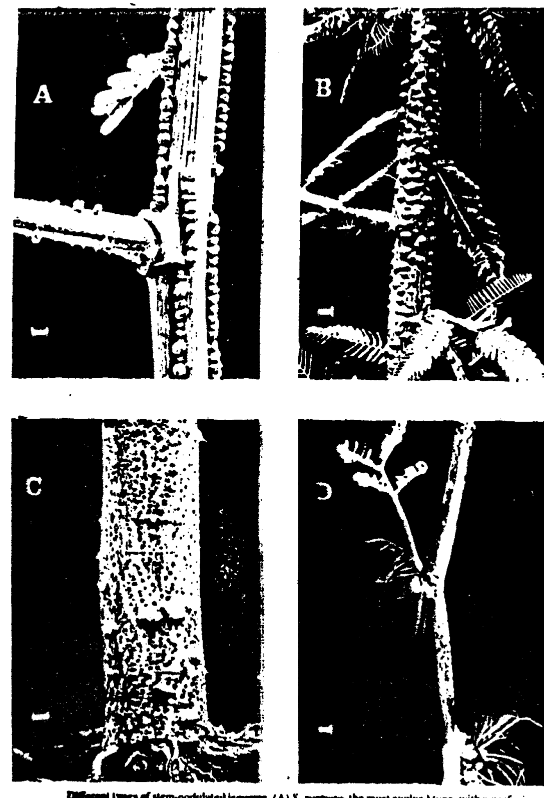
3. Aeschynomene group.

وهذه المجموعة يتبعها عدة سلالات منها السريع النمو ومنها البطئ (عمر الجيل ١٠ ساعة) .

ونظرا لان ريزوبيا عقد الساق ، توجد فى اماكن قريبة من اماكن عملية التمثيل الضوئى للنبات ، فان ريزوبيا الساق تمتاز على ريزوبيا الجذور فى أن نظامها الانزيمى من النيتروجيناز يستطيع أن يثبت الازوت الجوى حتى فى وجود تركيزات مرتفعة نسبيا من الاكسجين حول العقدة ، أو من النتروجين فى التربة . وهذا يوضح أنه تحت تلك الظروف ، فان لعقد الساق قدرة أكبر على التثبيت من عقد الجذور .

---

* c.a. Klug & Reddy, 1984.



Different types of stem-nodulated legumes. (A) *S. rostrata*, the most evolved type, with a profusion of nodules distributed along vertical lines. (B) *A. afraspera*, also an evolved type of stem-nodulated legume, with profuse nodulation. (C) *A. elaphroxylon*, the least evolved *Aeschynomene* sp., with a few nodules at the base of the stem. (D) *N. oleracea*, with nodules occurring only on developed adventitious roots formed at the level of the stem nodes. In all cases the bar represents 0.5 cm.

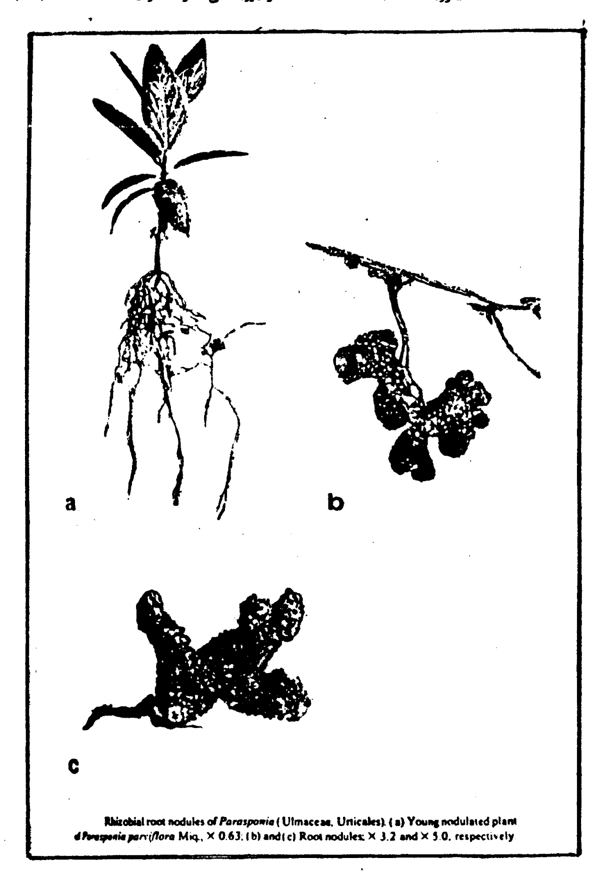
(From Klug & Reddy, 1984).

شكل رقم (٧-١٣) : أنواع مختلفة من النباتات المكونة لعقد على الساق مثبتة للأزوت .

الرايزوبيا فى غير البقوليات :

رغم أنه من المعروف أن الرايزوبيا تكون العقد البكتيرية فى النباتات البقولية ، الا أنـه عزل فى السبعينات سلالات من الرايزوبيا مثل السلالة *Parasponia rhizobium* ANU 289 ، لها القدرة على تكوين عقد جذرية تثبت الازوت الجوى تعاونيا ، مع نباتات ذات فلقتين غير بقولية مثل النباتات التابعة لجنس *Parasponia* ، هذه السلالات مـن الرايزوبيا من النوع البطىء النمو وتتشابه فى بعض صفاتها مع ريزوبيا اللوبيا Cowpea group Bradyrhizobium.

وقد وجد أن هذه السلالات لها القدرة على تثبيت الازوت الجوى تعاونيا (مع بعـض البقوليات وغير البقوليات) وفى الحالة الحرة ايضا تحت ظروف تميل الى التاحية اللاهوائية .



Rhizobial root nodules of *Parasponia* (Ulmaceae, Urticales). (a) Young nodulated plant of *Parasponia parviflora* Miq., × 0.63; (b) and (c) Root nodules; × 3.2 and × 5.0, respectively

(From Subba Rao, 1982)

شكل رقم (٧-١٤) : عقد جذرية للرايزوبيا فى نبات باراسبونيا .

أ ـ نبات حديث التعقيد × ٠ر٦

ب ـ عقد جذرية × ٣ر٢

جـ ـ عقد جذرية × ٥ر٠

العوامل التي تؤثر على تثبيت النتروجين الجوي تكافليا :

يتوقف مقدار النتروجين الجوى الذى تثبته البكتريا العقدية بالاشتراك مع النباتات البقولية على عوامل كثيرة بعضها يتعلق بالتربة وبعضها يتعلق بكل من النبات البقولى والبكتريا العقدية .

أما فيما يتعلق بالتربة فقد وجد ان هناك علاقة وثيقة بين تأثير بعض العوامل مثل التهوية ودرجة الحرارة ونسبة الرطوبة والملوحة والرقم الايدروجيني على نمو النباتات البقولية ، ومقدار ما تثبته من النتروجين الجوى ، وبوجه عام يمكن القول ان العوامل التى تزيد من نمو البقوليات تساعد ايضا على تكوين العقد الجذرية وتثبيت النتروجين الجوى . وتزيد من مقدرتها على تثبيت النتروجين الجوى ، فمثلا تجود معظم النباتات البقولية عندما يكون الرقم الايدروجيني للتربة قريبا من التعادل ، وعلى هذه الدرجة تصل نسبة النتروجين المثبت الى حدها الاقصى،كما ان النباتات البقولية التى يلائم نموها الوسط الحامضى فأنه يصل اقصى ماتثبته من نتروجين عند هذه الدرجة من الحموضة،كما وجد ان العقد البكتيرية حساسة للجفاف الزائد وللملوحة وللحرارة المرتفعة وللرطوبة الزائدة والغمر التى تؤدى الى نقص الاكسجين كما فى الاراضى الغدقة .

كما انها حساسة لبعض الآفات ويرقات الحشرات والبكتريوفاج ، ومن العوامل المشجعة لها وجود فطر الميكورهيزا التى تساعد على توفير الفوسفور لبكتريا العقد الجذرية .

وللعناصر الغذائية التى توجد فى التربة أو التى قد تضاف اليها تأثير واضح على عملية تثبيت النتروجين فقد اظهرت تجارب الحقل ان اضافة المركبات الكيمائية مثل الكالسيوم والمنجنيز والفوسفات والبوتاسيوم تنشط تكوين العقد الجذرية ، وتزيد فى قدرتها على تثبيت النتروجين الجوى ، وأن كان لم يعرف بعد حقيقة الدور الذى تلعبه فى ميكانيكية عملية التثبيت .

أما الكالسيوم فأنه مطلوب ـ خاصة ـ فى المراحل الاولى من العدوى بالريزوبيا،حيث يدخل فى نشاط الانزيمات المحللة للبكتين التى تساعد ميكروب الريزوبيا على اختراق الشعيرة الجذرية .

وقد وجد أن اضافة الجير الى التربة الفقيرة فيه ضرورى للحصول على محصول وافر وكمية كبيرة من النتروجين المثبت،ولما كان الجير يضاف الى التربة عادة على صورة كربونات الكالسيوم، فقد عزى البعض التأثير النافع للكالسيوم الى ان كربوناته تجعل الوسط الذى تنمو فيه النباتات متعادلا ، ولكن التجارب التى اجريت اخيرا اثبتت أن التأثير يعود الى عنصر الكالسيوم نفسه ، فقد امكن الحصول على نسبة عالية من الازوت المثبت بواسطة نبات فول الصويا المنزرع فى تربة حامضة عندما أضيف الى التربة كمية مناسبة من الكالسيوم ، أما المنجنيز فقد وجد أنه يلعب

دورا هاما فى تكوين العقد الجذرية وقدرتها على تثبيت النتروجين بواسطة نبات فول الصويا. وقد عزى البعض تأثيره الى ان وجوده يساعد على الاستفادة من الكالسيوم . كما وجد ان الفوسفات تزيد من نمو المحاصيل البقولية ، كما تزيد من قدرتها على تثبيت النتروجين ، أما البوتاسيوم فيساعد على تثبيت النتروجين عن طريق تأثيره على زيادة تكوين الكربوهيدرات فى النبات.ولبعض العناصر النادرة Trace elements تأثير واضح على مقدار ماتثبته النباتات البقولية من نتروجين ، فقد لوحظ ان النباتات المكونة للعقد البكتيرية تحتاج الى كمية أكبر من العناصر النادرة والفوسفور والبوتاسيوم من نفس النباتات غير المكونة للعقد .

لعنصر الموليبدنيوم اهمية خاصة فى عملية التثبيت نفسها . فبالاضافة الى أنه يدخل فى تركيب انزيم النيتروجيناز ، فانه يوجد ايضا فى انزيم Nitrate reductase الذى يوجد فى بكتيرويد بعض العقد . وغياب هذا المعدن لا يؤثر على نمو النبات ولا يمنع تكوين العقدة الجذرية ولكنه يؤثر على كفاءتها فيفقدها قدرتها على التثبيت . أما البورون فقد ظهر أن وجوده ضرورى لتكوين العقدة الجذرية .

وقد لوحظ أن عنصر الكوبالت ضرورى لعملية تثبيت النتروجين تكافليا ، اذ ان البكتريا العقدية تحتاج الى هذا العنصر لدخوله فى تركيب vitamin B_{12} Co-enzyme الذى يدخل فى نشاط انزيمات nucleotide reductase & methylmalonyl mutase التى تلعب دورا أثناء تكوين العقدة وأثناء عملية التثبيت ، أما النحاس فانه يدخل فى تمثيل حمض gamma amino butyric acid الموجود بعقد ريزوبيا بعض أنواع البرسيم .

ويعتبر مستوى النتروجين المعدنى (الامونيا والنترات) من العوامل الرئيسية المؤثرة على مستوى تثبيت النتروجين تكافليا،فأن وجود مستوى عال من النتروجين المعدنى يؤدى الى ان النبات البقولى يمثله مع حدوث تناقص واضح فى اعداد واحجام العقد،ولكن وجود مستوى منخفض من الامونيا والنترات يشجع تكوين العقد وتثبيت النتروجين . ولقد أثبتت الدراسات باستخدام النتروجين ^{15}N ان هناك علاقة عكسية بين معدل تثبيت النتروجين ومستوى النتروجين المعدنى فى التربة ، ويفترض ان النبات البقولى عندما يمتص نتروجين جاهز من التربة فأن النمو الخضرى يزداد وتتجه أغلب الكربوهيدرات الى عملية انتاج انسجة خضرية جديدة فتقل الكربوهيدرات التى تصل الى العقد فيقل حجمها و معدل تثبيت النتروجين الجوى .

ويجب أن نشير الى أنه من المهم وجود كمية من النتروجين المعدنى الميسر للنبات فى التربة فى أوائل عمر النبات قبل أن تبدأ العقد الجذرية فى تثبيت النتروجين،خصوصا فى حالة النباتات ذات البذور الصغيرة والتى تكون كمية الغذاء المخزنة فى البذور غير كافية لامداد البادرة باحتياجاتها من النتروجين خلال مراحل النمو الاولى،لذلك فعادة ننصح بتسميد النباتات البقولية بكمية ضئيلة من السماد النتروجينى عند الزراعة لتغطية الفترة الاولى .

ولا تتوقف كمية ماتثبته النباتات البقولية من النتروجين الجوى على ماسبق ذكره من عوامـل طبيعية او كيمائية فقط ، ولكن تتوقف ايضا على عوامل حيوية تتعلق بكل من النبات والبكتريـا ومقدار استجابة كل منهما للآخر اثناء معيشتهما المشتركة ، ويرجع التفاوت فى الاستجابة الـى ما يأتى :

أ) سلالة البكتريا أو اختلاف السلالات داخل النوع الواحد من الريزوبيا :

STRAIN VARIATION WITHIN SPECIES OF RHIZOBIA

فالسلالات المختلفة لنوع واحد من البكتريا العقدية تختلف فى مقدرتها على تثبيت الازوت الجوى بالاشتراك مع العائل ، فمثلا اذا عزلت ١٠٠ مزرعة نقية من البكتريا التى تصيب البرسيم من عقد جذرية لنباتات مأخوذة من حقول برسيم مختلفة،فأن هذه السلالات البكتيرية تختلف فـى قدرتها على تثبيت النتروجين الجوى عندما تدخل فى معيشة مشتركة مع صنف واحد مـــــن البرسيم ، فقد وجد ان من بيـن كل مائة مزرعة يتم عزلها،نحو ٢٥ مزرعة لها القدرة العاليـــة على تثبيت النتروجين،ونحو ٥٠ منها متوسطة،بينما الباقى ليس له الا قدرة ضعيفة على تثبيــت النتروجين.وقد اطلق على السلالات التى لاتثبت النتروجين أو تثبته بكميات ضئيلة اسم سلالـــة غير فعالةIneffective تمييزا لها عن السلالات الفعالة Effective strains .

ويعتقد بعض الباحثين ان اختلاف السلالات عن بعضها فى مقدرتها على تثبيت الازوت يرجع الى السرعة التى تتحلل بها العقد الجذرية،فالسلالات غير الفعالة تتحلل عقدها بسرعة عقب تكوينها بخلاف السلالات الفعالة التى تستمر عقدها فترة طويلة تثبت خلالها كمية كبـــيرة من النتروجين قبل أن تتحلل ، وعلى ذلك فالفرق بين الاثنين هو فرق كمى . فاذا قامـــت العقد الجذرية بوظيفتها مدة طويلة من الزمن تثبت خلالها كمية كبيرة من النتروجين اعتــبرت العقدة ناتجة من سلالة بكتيرية فعالة ، اما اذا تحللت العقدة فى فترة قصيرة فأنه رغما عـــن مقدرتها على تثبيت النتروجين الجوى خلال فترة حياتها،فأنها تعتبر ناشئة من سلالة غـــــير فعالة .

ب) تخصص النبات العائل : **HOST PLANT SPECIFICITY**

تختلف السلالات البكتيرية لصنف واحد من البكتريا العقدية فى قدرتها على تثبيت الازوت فى العوائل المختلفة التابعة لنفس المجموعة التبادلية ، فاحدى السلالات قد تعطى قـــدرة عالية على التثبيت فى احد العوائل وقدرة اقل على عائل ثان من نفس المجموعة ، وهــــذه الظاهـرة تلاحظ بكثرة . فمثلا سلالة الميكروب *Rhizobium meliloti* المعزولـــة من البرسيم الحجازى تستطيع ان تكون عقدا جذرية مع كل من البرسيم الحجازى والنفـــــل والحندقوق والحلبة التى تضمها مجموعة واحدة الا انه من الثابت ان البكتريا التى تعزل مـــن عقد جذور البرسيم الحجازى ، فانها اقدر على تثبيت كمية أكبر من الازوت اذا ما لقحت البرسيم

من بقية النباتات الداخلة معه فى نفس المجموعة . كما ان للبكتريا التى تعزل من العقــد الجذرية لنبات الحلبة القدرة العالية على تثبيت النتروجين عندما تلقح بها الحلبة عما اذا لقحت فى البرسيم الحجازى ، وقد يكون هذا التخصص ابعد مدى ، فأن سلالة واحدة مــن البكتريا العقدية الخاصة بالبرسيم قد تكون اقدر على تثبيت الازوت بالاشتراك مع سلالة معينـة من البرسيم عن سلالة اخرى من نفس النوع .

جـ) عدد البكتريا العقدية من السلالة الملائمة فى التربة :

وهذه النقطة ذات اهمية كبيرة لان عدم وجود العدد الكافى من سلالة قوية معناه نقص فى عدد العقد المتكونة على النبات ، وبالتالى نقص معدل تثبيت النتروجين . ومــن الملاحظ انه بعد تلقيح الارض بالبكتريا العقدية فأن اعدادها تتناقص فى التربة بعد فـترة . وهذا التناقص (بافتراض ان التربة خصبة ولا تحتوى على مواد او ظروف مانعة لنمو الميكروبات) يرتبط بعوامل كثيرة ومن هذه العوامل وجود البروتوزوا التى تلتهم البكتريا ، وايضا البكتريــا من جنس Bdellovibrio والتى تتطفل على البكتريا العقدية وايضا وجود البكتريوفـاج Bacteriophage الذى يتطفل ويحلل خلايا البكتريا العقدية . ولقد لوحــظ ان استمرار زراعة ارض معينة بمحصول بقولى واحد لمدة طويلة مثل البرسيم الحجازى أو البرسيم العادى فأن المحصول يقل والنباتات تصبح ضعيفة ويطلق على هذه الظاهرة اســم alfalfa or clover sickness ، ولقد عزى هذا الى تأثير البكتريوفاج علــى البكتريا المتخصصة مما يؤثر على عملية تثبيت النتروجين .

الظقيح بالبكتريا العقدية :

قد تلقح التربة بالميكروبات النافعة ، ولكى تتكاثر تلك الميكروبات الملقحة لابد مــن توافر العوامل المناسبة لنموها .

وقد ثبت ان تلقيح التربة ببكتريا العقد الجذرية للنباتات البقولية هام جدا ، خصوصـا فى الاراضى المستصلحة حديثا التى لم تزرع بعد بالنباتات البقولية مثل الصالحية وديرســة التحرير ، او عند ادخال صنف جديد من النباتات البقولية التى لم يسبق زراعتها بعد مثـل فول الصويا ، أو حتى فى الاراضى القديمة التى حدث تدهور فى محتواها من البكتريـــا العقدية .

وتوجد عدة طرق لتلقيح النباتات البقولية بواسطة البكتريا العقدية منها :

١) استعمال التربة :

وفى هذه الطريقة ينقل جزء من التربة من الطبقة السطحية (٥ - ٢٠ سم) من حقــل سبق زراعته بنجاح بنفس المحصول البقولى المراد زراعته . وتكفى كمية ٢٠٠ كجم تربة لتلقيح فدان واحد تنثر هذه الكمية على سطح الحقل وتخلط جيدا بالتربة قبل زراعة البذور .

ولهذه الطريقة عدة عيوب منها عدم التأكد من معرفة ما اذا كانت التربة تحتوى علـــى العدد الكافى من البكتريا لتكوين العقد الجذرية ، كما قد تحتوى تلك التربة على بـــذور حشائش ضارة كالهالوك أو على آفات وميكروبات مرضية ، لذلك فأن هذه الطريقة قلما تستعمل الآن .

٢) استعمال المزارع البكتيرية :

وفى هذه الطريقة تخلط البذور قبل زراعتها مباشرة بمزرعة نقية من بكتريا العقـــد الجذرية ، وقد تكون هذه المزارع سائلة على أو على آجار أو على مادة حاملة والنوع الاخير هـو الشائع الاستعمال .

تبدأ الخطوات الاولى باختيار السلالة الفعالة من الريزوبيا للنبات العائل التى تتحمل ظروف التخزين ودرجات الحرارة العالية . ثم تنمى البكتريا فى مزرعة سائلة مناسبة وتترك لتنمو على درجة ٢٥°م .

بالنسبة للبيئة الغذائية ، فان الريزوبيا ذات احتياجات غذائية عادية ، ويمكن أن تـزرع فى مزارع مهتزة أو فى أوعية زجاجية بهواء معقم ، أو فى مخمرات مناسبة على أن تزود بفتحـــات لاضافة اللقاح وأخذ العينات .

مصدر الكربون المناسب هو السكروز والمانيتول والجليسرول والارابينوز ، وان كانـــت الريزوبيا بطيئة النمو لاتمثل السكروز ، وتستعمل مستخلصات الخميرة عادة كمصدر للنتروجـــين وعوامل النمو .

مزارع البكتريا على مادة حاملـة :

تلقح البكتريا كما ذكرنا على بيئة سائلة مناسبة مثل بيئة مستخلص التربة ، ثم تترك لتنمـو على درجة ٢٥°م حتى اذا ما بلغ النمو اقصاه (٥ أيام) للسريعة النمو ، (٧ أيام) للبطيئة النمو) ، يضاف السائل المحتوى على البكتريا الى مادة حاملة مثل السماد العضوى الصناعـى المعقم Compost أو الدبال أو خليط من التربة والفحم ويخلط جيدا على ان تكون درجـــة الرطوبة النهائية من ٤٠ - ٥٠٪ ثم يعبأ المخلوط فى اكياس سيلوفان أو علب صفيح محكمـــة الـقفل ثم توزع بالاسواق .

المزارع المحضرة بهذه الطريقة تحتفظ بحيويتها لمدة طويلة ، خاصة اذا حفظت علـــى درجة حرارة منخفضة ، على انه من المستحسن استعمال تحضيرات حديثة للحصول على افضل النتائج .

ولاستعمال هذا النوع من المزارع ، تؤخذ كمية مناسبة من المزرعة ويضاف اليها المـــاء بكمية كافية لعمل معلق ويضاف اليه البذور المراد تلقيحها ، ثم تقلب معه جيدا وتنشر لتجف قليلا قبل زراعتها .

تحضر هذه المزارع الان تجاريا بكثرة وتوجد بالاسواق تحت اسماء مختلفة ، وقد تحتوى المزرعة على صنف بكتيرى لتلقيح النباتات التى تقع فى مجموعة واحدة مثل مجموعة البرسيم أو البسلة مثلا ، أو قد تحتوى على البكتريا الخاصة بنبات معين فى المجموعة الواحدة مثل البرسيم المسقاوى ، أو قد تحتوى على عدة أنواع تصلح لتلقيح أكثر من مجموعة نباتية مثل مجموعتى البرسيم الحجازى وفول الصويا .

الحامل : Carrier

يجب أن يكون الحامل المستخدم متوفر محليا ، رخيص الثمن ، غير سام للرايزوبيا ، له قدرة عالية على الامتصاص ، سهل التعقيم .

ومن الحوامل التى تستعمل البيت الناعم Peat ، الطمى ، الفحم ، قوالح الذرة المطحونة ، مصاصة القصب ، كومبوست قشر بذرة القطن وغيرها من المواد المماثلة ، على أن تنعم المادة المستعملة وتزود بالرطوبة والعناصر الغذائية المناسبة .

وقد توصلت شعبة بحوث الميكروبيولوجيا الزراعية بمركز البحوث الزراعية بالجيزة من انتاج حامل لتحميل البكتريا العقدية الخاصة لكل نوع من انواع المحاصيل البقولية المختلفة ويسمى ذلك المستحضر بالعقدين ، ويتركب العقدين من حامل يتكون من الآتى :

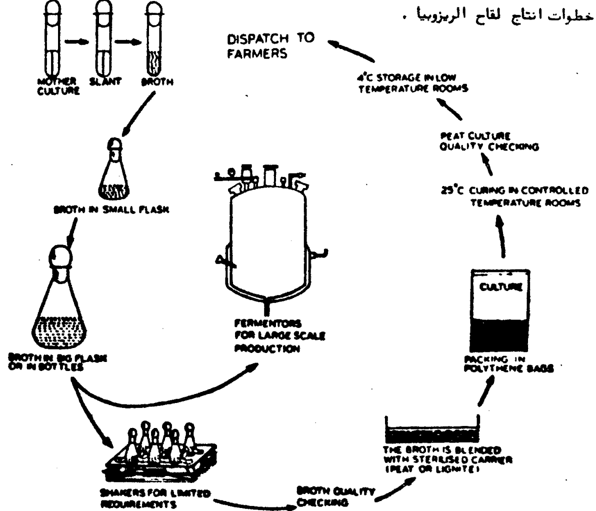
تربة منخولة	٩٠٠ جرام
مسحوق فحم حيوانى ناعم	١٠٠ جرام
جيلاتين	١٠ جرام
مانيتول	١٠ جرام
فوسفات ثنائى البوتاسيوم*	٥ جرام

ويجرى حاليا استعمال حامل عبارة عن خليط من تربة طمية وقش البرسيم المطحون بنسبة ٣ : ٢ وهذا الخليط يوفر وسط متعادل ورطوبة ومواد مغذية مناسبة للمكروب .

يلقح الحامل بمزرعة نقية نشطة عمرها ٥ أيام من الريزوبيوم وتخلط جيدا . ويصل عدد المكروبات بالخليط الى تركيز حوالى ٥٠٠ × ١٠^٦ / جم على الاقل وتعيش تلك المكروبات بكفاءة لعدة اشهر على درجة حرارة الحجرة وتكفى العبوة ١٠٠ جم لتلقيح فدان . وقد لوحظ انه يلزم لكل بذرة ١٠٠ ميكروب على الاقل لتكوين عقد ناجحة .

يعبأ اللقاح فى أكياس من البولى اثيلين المعقمة باشعة جاما ، لان التعقيم بالحرارة يتلف تلك الاكياس،وتستعمل الاكياس ذات الكثافة المنخفضة التى لا يزيد سمكها عن ٠٫٠٤ مم لتسمح بتبادل الغازات ، وتعتبر هذه الاكياس اقل انواع العبوات فقدا للرطوبة اثناء التخزين .

وتؤثر ظروف تخزين الحامل المحمل باللقاح ، خاصة درجة الحرارة والرطوبة النسبية ، كثيرا على حيوية الريزوبيا،لذلك فانه قبل استعمال اللقاح يجب ان تجرى عليه اختبارات الجودة وذلك بعد الريزوبيا واختبار حيويتها والتأكد من قلة نسبة التلوث . والشكل (٧-١٥) يبين خطوات انتاج لقاح الريزوبيا .



Procedure for mass production of rhizobia.

(From Subba Rao, 1982).

شكل رقم (٧-١٥) : خطوات انتاج لقاح الريزوبيا .

الريزوبيا والكائنات المجهرية الاخرى :

قد توجد علاقات تضاد بين الريزوبيا وبعض الكائنات المجهرية الاخرى المحيطة بالريزوبيا بالتربة وحول الجذور . هذا التضاد قد يكون مباشرا كما فى حالة الافتراس Predation بواسطة Protozoa, Myxobacteria, Bdellovibrio ، او يكون غير مباشر بجعل الظروف البيئية المحيطة بالريزوبيا غير مناسبة كما فى حالة تغيير الرقم الهيدروجينى pH ، وبالتنافس على المواد الغذائية ، افراز مواد سامة او مضادات حيوية ... الخ . فقد لوحظ تعرض الرايزوبيا المضافة للتربة للتنافس مع بعض انواع البكتريا مثل الباسلس والسيدومناس ومن الرايزوبيا القاطنة اصلا بالتربة وكذلك من بعض الفطريات مثل الاسبرجلس والبنسيليوم .

كما عزلت بعض أنواع من R. *trifolii* لها القدرة على افراز مواد بروتينية من نـــوع Bacteriocins لها تأثير ضار على البكتريا . مثل تلك الرايزوبيا تستطيع أن تسود في مزارع الرايزوبيا الخليطة . لذلك فانه عند استعمال لقاحات بها انواع متعددة مـــــن الرايزوبيا ، فان كل سلالة يجب أن تنمى مستقلة بالبيئة السائلة لتجنب سيادة احداها علـى الاخرى ثم تخلط مع بعضها عند اضافتها للحامل .

بالاضافة الى ذلك فأن الريزوبيا تتعرض للتطفل بواسطة البكتريوفاج المسمـــــــــى Rhizobiophage وقد بدأت الملاحظات الاولى الخاصة بذلك منذ عام ١٩٢٣ ، ومنذ ذلك الوقت بدأ يتضح مدى تواجد الرايزوبيوفاج في العقد الجذرية وعلى الجذور وفي التربة ، وقد امكن عزل هذه الانواع من البكتريوفاج من تربة وجذور وعقد نباتات بقولية عديدة مثـــل البرسيم المصرى والبرسيم الحجازى وغيرها ، خاصة في الاراضى التى تزرع بنبات بقولى معـين باستمرار ولمدة طويلة . ولقد اوضحت الدراسات وجود فاجات الريزوبيا في الاراضى المصرية بتركيزات ملموسة ، لذلك فأنه ينصح باستعمال سلالات مقاومة للفيروس ، ويمكن للريزوبيا ان تكتسب المقاومة للفاج بثلاث طرق :

١ - منع ادمصاص الفاج على سطح الخلايا البكتيرية .
٢ - منع اختراق الفاج للخلية البكتيرية .
٣ - هضم البكتريا لـ DNA الفاج بعد دخوله .

وعلى ذلك فان استخدام سلالات من ريزوبيا فول الصويا مقاومة للفاج وللمضادات الحيوية وملائمة لظروف التربة المصرية يمكننا من التغلب على مشكلة عدم حيوية ريزوبيا فول الصويا . وكل انواع الريزوبيا عرضة لمهاجمة الريزوبيوفاج ولكل نوع ريزوبيا الرايزوبيوفاج الخاص بـــه ، فمثلا نجد Melilotiphage, Trifoliphage, Lupiniphage ... etc. . ومهاجمة الريزوبيوفاج للريزوبيا تتشابه في خطواتها مع نظم باقى الفاجات الاخرى والتى تنتهى بتحلل خلايا العائل ، مما يترتب عليه اضمحلال في تكوين العقد الجذرية للنبات البقولـــى المعين ، وتدهور في محصوله . وبالطبع فان اصابة النبات البقولى نفسه بالفيروســــات النباتية ، يؤدى الى انخفاض في عدد وحجم العقد الجذرية بالنسبة للنبات المصاب عـــن النبات السليم ، ويزيد هذا الانخفاض كلما كانت اصابة النبات بالفيروس مبكرة او اذا حدثــت اصابة بأكثر من فيروس مثل SM, BEMV على نفس النبات .

ويمتاز تركيب الحامض النووى في الرايزوبيوفاج بأنه DNA مزدوج السلســـة double stranded وله وزن جزيئى يتراوح ما بين ٢٧ - ١٠٠ مليون دالتون ، ونسبة القواعـــد النتروجينية به (جوانين + سيتوسين) من ٥٢ - ٦٠٪ وهى مساوية لتلك النسبة الموجـودة بميكروب الريزوبيا العائل .

الريزوبيا والفاصوليا :

مما يلفت النظر ان العقد الجذرية تفشل في التكون على جذور الفاصوليا بالرغم من تلقيح جذورها ببكتريا العقد الجذرية . وقد فسر ذلك بعدة اسباب منها :

١) مهاجمة البكتريوفاج لبكتريا العقد .

٢) موت الريزوبيا لوجود مواد سامة حول البذور او تفرزها البذور اثناء انباتها او اثناء تكوين العقد ، مثل التأنين والفينولات . ويتم التغلب على ذلك بنقع البذور في الماء لمدة يومين حتى ظهور الجذير وذلك للتخلص من المواد السامة ، ثم التلقيح والزراعة .

٣) حساسية الميكروب للميكروبات المنافسة antagonistic effect وعدم امكانه التغلب عليها ، كما في حالة تأثره بالمضادات الحيوية .

٤) عدم توافق بكتريا العقد المستوردة مع ظروف التربة المصرية .

٥) التنافس بين سلالات الريزوبيا وبين بعضها .

وقد نجح الباحثون المصريون من عزل سلالات فعالة من جذور نباتات الفاصوليا ملائمة للظروف المحلية ، يمكنها ان تكون عقدا بالجذور .

الرايزوبيا وفول الصويا :

يعتمد نجاح التلقيح برايزوبيا فول الصويا ، على قدرتها على التعايش بالتربة ، وريزوسفير النبات العائل ، وملائمة ظروف التربة البيئية لها (الرطوبة ، الجفاف ، الحموضة ، الملوحة ، درجة الحرارة ، العناصر الغذائية ، المواد السامة ...) ، وعلى منافستها للبكتريا المتوطنة بالتربة ، وعلى نوع وكفاءة الرايزوبيا المستعملة كلقاح .

بدأت المساحات المنزرعة من فول الصويا بمصر في الازدياد منذ عام ١٩٧٠ ، ولقد بدأ تلقيح البذور بسلالات فعالة من الريزوبيا المستوردة التي تمكنت من النمو تحت الظروف المحلية وامكن عزلها وانتاجها على نطاق تجاري .

ولقد لوحظ من الابحاث التي اجريت ان ريزوبيا فول الصويا حساسة للحرارة،ولا ينمو بعضها عند درجة اعلى من ٣١°م،ويثبط نموها اذا زادت نسبة كلوريد الصوديوم بالبيئة عن ٥١ر. مولر،كما انها حساسة جدا للجفاف . وقد ادى ذلك الى موتها وعدم نمو الكثير منها . وقد امكن توفير الوسط الملائم لنموها بتوفير ماء الري عقب الزراعة ثم بمداومة الري ، وبذا امكن نموها بشكل واضح بمعدل ٤٠ - ٥٠ عقدة على جذور النبات الواحد .

وعموما فقد لوحظ من التجارب التي اجريت ، ان لقاح ريزوبيا فول الصويا لا يعيش اكثر من سنتين في التربة المصرية ، لذلك فانه ينصح باجراء تلقيح ارض فول الصويا سنويا لما في ذلك من زيادة في المحصول تؤدي الى عائد اقتصادي ملموس .

ومن أحسن الحوامل المستعملة في عمل لقاح ريزوبيا فول الصويا هو البيت المستورد Peat ، ورغم غلاء ثمنه ، الا ان عائد الارض نتيجة التلقيح يكون مجزيا .

مقارنة عملية التثبيت النتروجيني بين الميكروبات العائشة منفردة (لاتكافلية) والميكـــروبات العائشة بالاشتراك (تكافلية) :

رغم ان عملية التثبيت تتم بواسطة انزيم النيتروجيناز بطريقة متشابهة في كلا النوعين مـــن الميكروبات الا انه توجد فروقات واضحة فيما بينهما نوجزها فيما يلي :

١) من حيث طور النمو growth phase الذي يتم خلاله التثبيت :

يتم التثبيت في حالة الميكروبات العائشة منفردة مثل الازوتوباكتر في الخلايا النامية في الطور اللوغاريتمي (الذي يقدر متوسط عمر الجيل فيه بعدة ساعات) ، حيث يتحول النتروجين المثبت الى بروتين خلوي ، أما الخلايا غير النامية فأن النتروجين المثبت بهـا يتجمع في صورة مركبات ذائبة منها NH_4^+ المثبط لعملية التثبيت .

في حالة الميكروبات العائشة بالاشتراك ، فأن التثبيت يتم في الخلايا غير النامية ، في الطور الثابت الذي يستمر حوالي شهر .

٢) من حيث كمية النتروجين المثبت لكل جرام خلايا :

في حالة الازوتوباكتر ، فأنها تثبت حوالي ١ر. جم نتروجين لكل جرام خلايـــا ، وهذا اقل بكثير من تلك الكمية المثبتة في حالة الريزوبيا ، التي تثبت حوالي ١ – ٥ر٢ جم نتروجين لكل جرام خلايا بكتيرويد طوال مدة حياتها .

٣) كفاءة عملية التثبيت (مقدرة على اساس مللیجرام نتروجين مثبت لكل جرام جلوكـــــوز مستهلك) :

تثبت الازوتوباكتر حوالي ١٠ – ٢٠ مللیجرام ، أما الـ Klebsiella فتثبـــت حوالي ٥ مللیجرام ، والكلوستريديا من ٥ – ١٠ مللیجرام نتروجين لكل جرام جلوكـــوز مستهلك . أما في حالة ريزوبيا البسلة فأنها تثبت حوالي ٢٧٠ مللیجرام نتروجـــين لكل جرام جلوكوز مستهلك . وهي كمية أكبر بكثير من المثبت في حالة البكتريا العائشة منفردة .

هذا الفارق الكبير في كمية النتروجين المثبت بين النوعين يعود الى ظاهرتـــين هما :

أ – التثبيت في حالة الازوتوباكتر – والخلايا العائشة منفردة – يكون في خلايا ناميـــة تستهلك الكثير من الكربون والطاقة لتكون الخلايا الجديدة النامية .

ب - تحتاج الازوتوباكتر الى كمية كبيرة من مركبات الكربون فى التنفس الهوائى الزائد بها وذلك لابعاد الاوكسجين عن أنزيم النيتروجيناز ، وبذلك فـأن الكمية المتبقية منـه والتى تستخدم لتثبيت النتروجين تصبح قليلة .

٤) **النشاط النسبى لتثبيت النتروجين مقدرا على أساس ملليجرام نتروجين لكل جرام بروتـين فى الساعة :**

يلاحظ ان النشاط النسبى يكون أعلى بكثير فى حالة الازوتوباكتر من حالة البكترويد . فبفرض أن عمر الجيل فى مرحلة الطور اللوغاريتمى للازوتوباكتر حوالى ٢ - ٤ ساعــــة ، وبفرض انه فى خلال هذه المدة يتكون واحد جرام بروتين من الخلايا تحتوى على ١٦٠ ملليجرام نتروجين ، فان الكفاءة النسبية تصبح حوالى ٤٠ - ٨٠ ملليجرام نتروجين لكـل جرام بروتين خلايا / ساعة ، أما فى حالة الريزوبيا ، فأن تلك الكفاءة النسبية تكون أقل، حيث تقدر بحوالى ٢ - ٥ ملليجرام نتروجين لكل جرام بروتين بكتيرويد فى الساعة .

٥) **مصير النتروجين المثبت :** Fate of Fixed Nitrogen

الازوتوباكتر وباقى الميكروبات المثبتة للنتروجين فى الحالة المنفردة ، تستعمل الجزء الاكبر من النتروجين المثبت فى تكوين خلاياها النامية ، بينما تفرز حوالى من ٧ - ١٣٪ من النتروجين المثبت خارج خلاياها ، وفى حالة الطحالب المثبتة فان النسبة تتراوح ما بين ٢٠ - ٤٠٪ ، وهذا بعكس مايحدث فى حالة الرايزوبيا التى تعرز أغلب ماتثبته مـن نتروجين (أكثر من ٩٠٪) خارج خلاياها .

تثبيت النتروجين تكافليا فى النباتات غير البقولية :

SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION ON NON-LEGUMINOUS PLANTS

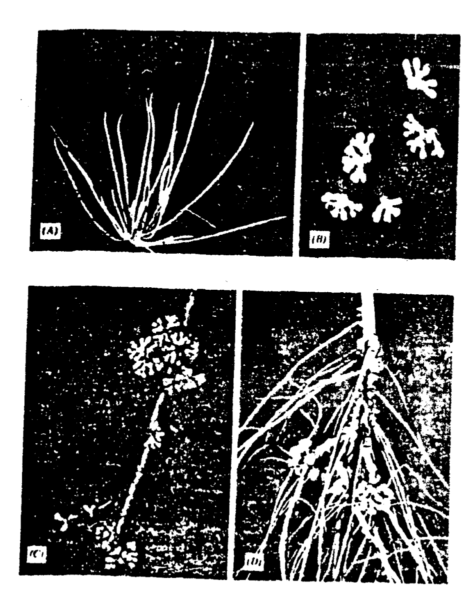
كان المعتقد قديما ان العقد الجذرية المثبتة للنتروجين لاتوجد الا على النباتات البقولية ، ولكن الدراسات اثبتت ان هناك نباتات غير بقولية يتكون على جذورها ايضا عقدا بكتيرية قادرة على تثبيت النتروجين،وأن هذه النباتات تتبع ٨ عائلات نباتية و ١٧ جنسا مختلفا من النباتات مغطاة البذور angiosperm ومن هذه النباتات *Alnus glutinosa* (خشب جيد للاثاث) ونخيل الشمع *Myrica gale* (اشجار تحسن خصوبة الارض) والهيبوفيا Hippophae (مثبت للكثبان الرملية) والجزوارينا Casuarina (مصد للرياح قوى) وغيرها من الاشجار .

وبالاضافة الى النباتات مغطاة البذور Angiosperm، فأن هناك بعض النباتات معراة البذور Gymnosperm تكون عقدا بكتيرية قادرة على تثبيت الازوت ، ومن امثلة هذه النباتات اجناس Cycas & Macrozamia والميكروب المسبب للعقد عبارة عن طحالب خضراء مزرقة .

ومعظم تلك النباتات سواء المغطاة أو المعراة البذور عبارة عن اشجار خشبية معمرة منتشرة فى اماكن كثيرة من العالم فى اراضى فقيرة فى الازوت .

وكل هذه الاشجار اذا نمت فى وسط فقير فى النتروجين فأن نموها يكون ضعيفا،اما اذا لقح الوسط الذى تنمو فيه بمطحون العقد الجذرية لنبات من نفس النوع فأن النمو يتحسن ويختفى اعراض نقص النتروجين ، ولقد امكن اثبات قدرة العقد الجذرية لهذه النباتات على تثبيت النتروجين بطريقة ^{15}N وطريقة اختزال الاستيلين . والعقد الجذرية فى بعض هذه النباتات مثل نبات *Alnus glutinosa* قد يصل حجمها الى حجم كرة التنس (من ٥ - ٦ سم فى القطر)،وكمية النتروجين المثبتة تختلف حسب النبات وظروف التربة فهى تتراوح بين ١٢ - ٢٠٠ كجم / هكتار فى حالة الالناس سنويا و ٥٨ كجم/هكتار فى حالة الجازورينا سنويا .

وقدرة الاشجار التابعة للانواع المثبتة على المعيشة التكافلية وحصولها على احتياجاتها من النتروجين من الجو لها قيمة ايكولوجية (بيئية) كبيرة،حيث ان بعض هذه النباتات امكنها ان تنمو جيدا فى اراضى فقيرة فى النتروجين مثل الكثبان الرملية،كما ان نمو هذه النباتات فى مثل هذه الاراضى الفقيرة فى النتروجين يزيد من محتواها النتروجينى زيادة واضحة علاوة على ان نمو هذه الاشجار يفيد الاشجار الاخرى غير القادرة على تثبيت النتروجين والمحيطة بها .



شكل رقم (٧-١٦) : عقد جذرية على نباتات غير بقولية (جازورينا A والناس D.C.B)

A. Root nodules of *Casuarina equisetifolia* showing that the apex of each nodule lobe produces a negative geotropic root. (x 0.6).

B. Coralloid root nodules of *Alnus glutinosa* . Detached and divided root nodules showing dichotomous branching. (x 1.0).

C. Coralloid root nodules of *Alnus glutinosa* in situ. (x 0.6).

D. Root nodules of *Alnus rubra* produced by an *Alnus glutinosa* inoculum. (x 0.6).

(From Subba Rao, 1982).

ويمكن تقسيم تلك النباتات غير البقولية من حيث الميكروبات المكونة للعقد الى ثلاث مجاميع كما هو موضح بالجدول رقم (٧-٢) .

Table (7-2): Non-leguminous root nodulated plants.

Endophyte	Symbiotic plant	Habitat
	A- Angiosperms نباتات مغطاة البذور	
I. Rhizobium	Trema; Zygophyllum	Tropical & Sub-tropical plants
II. Actinomycetes (Frankia)	Alnus	Temperate
	Coriaria	Temperate
	Hippophae	Temperate
	Casuarina	Tropical
	Myrica	Cosmopolitan
	B- Gymnosperms نباتات معراة البذور	
III. Blue green algae	Cycas	Tropical & Sub-tropical
	Zamia	" "
	Macrozamia	" "

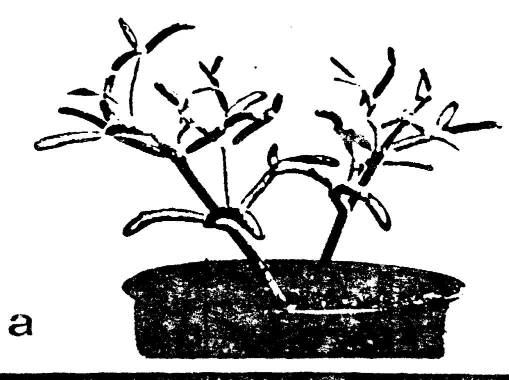
١) بالنسبة لنباتات المجموعة الاولى التى يمثلها نبات *Trema cannabina* فان المسبب للعقد الجذرية هو بكتريا من نوع الريزوبيا Cowpea type وقد اكتشف ذلك فى عام ١٩٧٥ فى غينيا الجديدة . وتتكون العقد من منطقة القشرة Cortex بالجذر المصاب مشابهة فى ذلك لحالة تكون العقد فى النباتات المصابة بالفرانكيا . وبالاضافة الى نبات الـ Trema فقد وجدت عقدا جذرية من الريزوبيا المثبتة للازوت الجوى فى بعض شجيرات صحراوية تتبع عائلة Zygophyllaceae مثل نباتات Zygophyllum Fagonia, Tribulus نامية فى اراضى رملية فقيرة وفى مناطق جافة .



شكل رقم (٧-١٧) : عقد ريزوبيا جذرية على نبات غير بقولى .

Nodulated plant of *Parasponia rugosa* (Formly classified as *Trema cannabina* var. *Scabra*). (X 0.56).

(From Hardy & Silver, 1977)





Zygophyllum coccineum L. (Zygophyllaceae. Malpighiales). (a) Young plant. × 1.3;
(b) Root nodules. × 1.4.

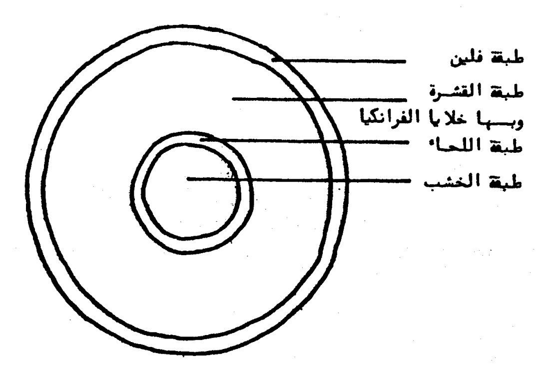
(From Subba Rao, 1982).

شكل رقم (٧-١٨) : نبات الزايجو فيللوم :

أ - نبات حديث . × ١٫٣

ب - عقد جذرية . × ١٫٤

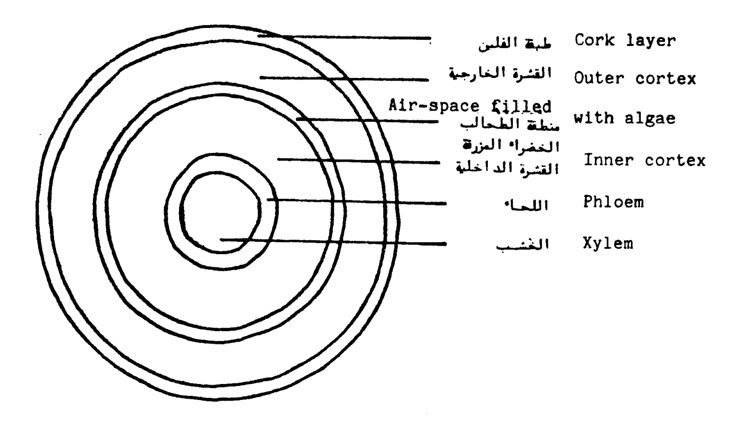
٢) وبالنسبة لنباتات المجموعة الثانية (مثل شجر الناس ونخيل الشمع والهيبوفيا والكازورينا) فأن البكتريا المثبتة للازوت بالعقد الجذرية تتبع جنس Frankia .من عائلـــــــــــة Frankiaceae التابعة لرتبة Actinomycetales .



شكل رقم (٧-١٩) : قطاع عرضى فى جذر Myrica فى مكان عقدة
T.S. of nodule lobe of Myrica

٣) بالنسبة لنباتات المجموعة الثالثة فأن أكثر من ٩٠ نوعا كلها تابعة لعائلة Cycadaceae (مثل اشجار السيكاس) وهى اشجار خشبية معمرة ، وجد ان جذورها تحتوى علـــى خيوط من الطحالب الخضراء المزرقة المثبتة للازوت مثل Nostoc, Anabaena موجودة داخل خلايا العائلة فى منطقة القشرة الخارجية للجذر Outer cortex وفى حالـــة السيكاس بالذات ، فان الطحلب *A. cycadeae* يوجد فى منطقة مميزة بين القشرة الخارجية والداخلية للجذر .

أغلب هذه النباتات المثبتة للازوت فى المجاميع الثلاث السابقة ، يمكن أن تعيش تعاونيا مع فطريات الميكورهيزا ، وبذلك فأنها تستطيع أن تنمو ايضا فى تربة فقيرة فى الفوسفات ، وهى تغنى التربة وما يجاورها من نباتات بالازوت المثبت .



شكل رقم (٧-٢٠) : قطاع عرضى فى جذر سيكاس فى مكان عقدة .

T.S. of Cycas nodule lobe.

الفرانكيا وتثبيت الازوت :

الفرانكيا من الاكتينوميسيتات الخيطية التى تنقسم فى اكثر من مستوى واحد ، وهى بطيئة النمو وتكون جراثيم اسبورانجية . واهم مميزات افراد جنس الفرانكيا انها تكون عقدا جذرية على النباتات غير البقولية ، مثل شجر الالناس والكازورينا ، قادرة على تثبيت النتروجين الجوى تكافليا ، بينما توجد فى التربة الزراعية فى حالة حرة وفى هذه الحالة فانها لاتستطيع تثبيت النتروجين الجوى ، وأهمية هذه الميكروبات كبيرة فى اراضى الغابات .

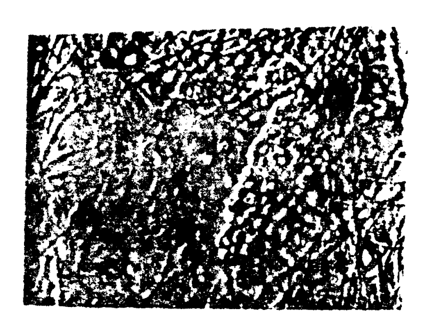
تظهر العقد على الجذور بعد مدة تتراوح مابين ١٠ - ٢٠ يوما من تلقيح الجذور بمعلق من مسحوق العقدة . وتتشابه عملية الغزو وتكوين العقدة مع مايحدث بين الرايزوبيا والبقوليات ، حيث يقترب ميكروب الفرانكيا ، وهو فى صورة هيفات من جذور النبات غير البقولى ، فاذا كان الميكروب متخصص يحدث انحناء لطرف الشعيرة الجذرية ثم يغزوها ويتكون خيط العدوى ، وتمتد هيفات الميكروب الى القشرة حيث تتكون العقدة وتتم عملية تبادل المنفعة بين الميكروب الداخلى Endophyte والعائل .

داخل العقدة الجذرية بالنبات العائل ، فان هيفات الفرانكيا تأخذ اشكالا متعددة ، فمنها مايشبه الخيوط ، ومنها خيوط لها نهايات ذات اوعية صولجانية Club-shaped vesicles ولها جدار مزدوج ، ويعتقد ان هذه الاوعية هى مكان انزيم النيتروجينيز وتثبيت النتروجين ، مثل الهيتروسيست فى السيانوبكتريا ، شكل الوعاء وحجمه يعتمد على نوع العائل الذى يتكون به . ومن الهيفات مايوجد فى شكل اجزاء صغيرة متقطعة وهى الصورة التى يخرج بها الميكروب الى التربة بعد تحلل العقدة ليعيش فى الحالة الحرة .

تتواجد خيوط الفرانكيا عادة فى سيتوبلازم خلية العائل ، أما الاوعية فتكون محاطة بميتوكوندريا العائل . وتشغل الفرانكيا حوالى ١٠ ٪ من كتلة العقدة المتكونة ، وقد لوحظ أن أغلب العقد المتكونة تحتوى على صبغة حمراء اللون من الانثوسيانين (بدلا من الهيموجلوبين فى عقد ريزوبيا البقوليات) . ومن الطبيعى فأن العقدة الجذرية للفرانكيا تختلف مورفولوجيا وتشريحيا عن العقدة الجذرية للرايزوبيا .

ولقد امكن مشاهدة هيفات هذه الميكروبات داخل العقدة الجذرية للنباتات أثناء معيشة تبادل المنفعة ، وعرفت المراحل التى يمر بها الميكروب داخل العقدة ، كما امكن أخيرا عزل بعض هذه الميكروبات على بيئات معملية وان كانت الطريقة المستعملة حتى الآن للتلقيح بهذه الميكروبات هو أخذ عقد جذرية وطحنها واستخدامها كلقاح .

تسمى النباتات غير البقولية المكونة للعقد الجذرية بالتعاون مع الاكتينومايسيتات (الفرانكيا) باسم Actinorhizal plants ، ويستعمل الآن اصطلاح Actinorhizas لتمييز العقد الجذرية التى تكونها الاكتينوميسيتات عن تلك التى تكونها بكتريا الرايزوبيا .



Frankia An 1, isolated from root nodules of A.nitída, and cultivated in P+N medium. Vesicle (v), sporangium (s) and hyphae (h). Inteference micrograph.

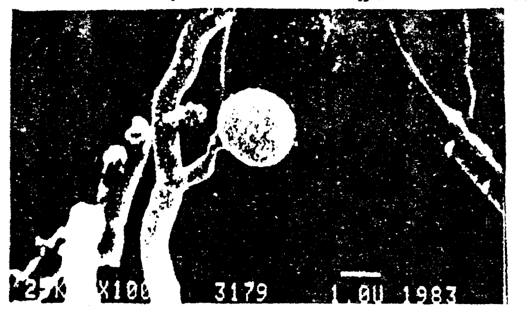
شكل رقم (٧-٢١) : فرانكيا معزولة من عقد جذرية لنبات الالناس ومنماه فى بيئة بها فو ، ن .
v : الوعاء .
s : سبورانجيوم .
h : هيفــا .
(From Veeger & Newton, 1984).

اقسام الفرانكيا :

امكن التعرف على عشرة أنواع تابعة لجنس الفرانكيا ، وهذه الانواع كلها متطفلـــة احباريا مع وجود مرحلة غير تعاونية بالتربة .

والتقسيم بنى على أسس فسيولوجية ومورفولوجية وذلك حسب التخصص فى اصابة العائـل وتكوين عقد جذرية علمية ، Cross inoculation group كما فى حالة الرايزوبيا ، وايضا حسب سطح الهيفا ، وشكل الانتفاخ الذى فى نهاية الهيفا (كروى ، صولجانى ...) ، وجود تركيبات أو اشكال معينة ... الخ .

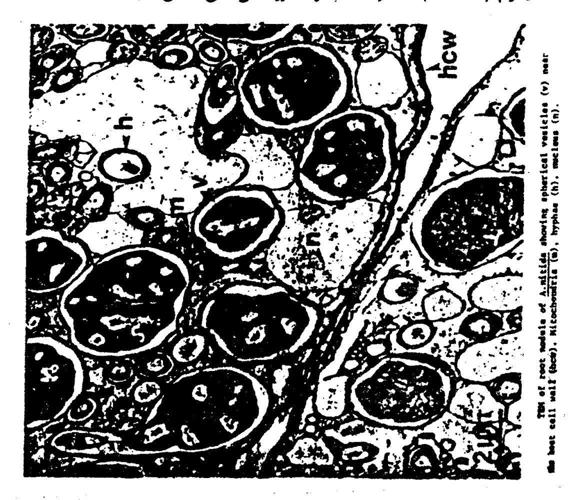
والجدول رقم (٧-٣) يوضح اهم الفروق بين الانواع العشرة التابعة لجنـس الفرانكيا .



. SEM of Frankia An 1 cultivated in P-N medium showing spherical vesicle on side branch of hyphae.

(From Veeger & Newton, 1984).

شكل رقم (٧ - ٢٢) : فرانكيا : وعاء كروى على تفرع جانبى للهيفا .



TEM of root nodule of A.nitida showing spherical vesicles (v) near the host cell wall (hcw). Mitochondria (m), hyphae (h), nucleus (n).

شكل رقم (٧- ٢٣) : عقدة جذرية فى نبات الالناس .

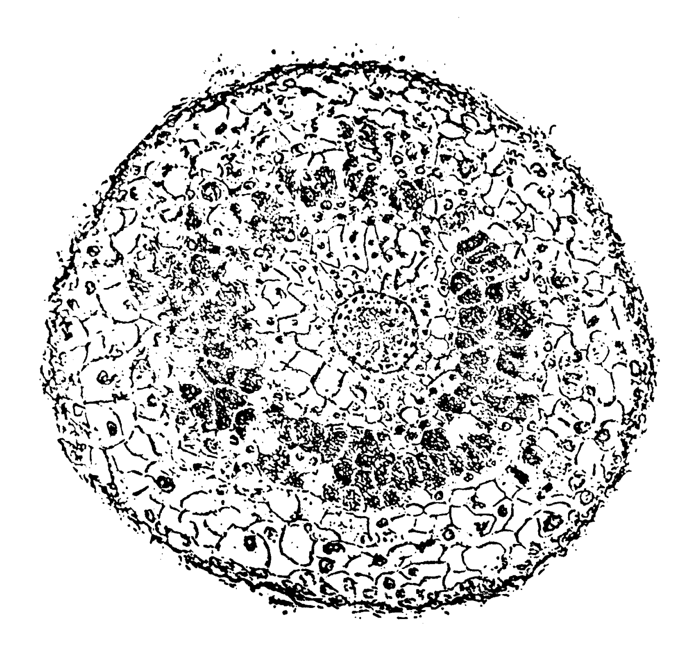
v : وعاء كروى جوار خلية العائل (hcw) .

h : هيفـــا .

n : النـــواة .

m : ميتوكوندريا .

(From Veeger & Newton, 1984).



(From Hardy & Silver, 1977)

شكل رقم (٧-٢٤) : قطاع عرضي في عقدة جذرية لنبات الالناس .

Transverse section through a root-nodule lobe of *Alnus glutinosa*. In some cortical parenchyma cells big nuclei in the process of mitosis and individual chromosomes are visible. Fixed preparation, stained with Heidenhain's iron-hematoxylin. (x 630).

جدول رقم (٧-٣) : الفروق بين أنواع جنس فرانكيا*.

Differentiation of Species in the Genus *Frankia*.

Actinomycete species	Host species	Hyphae (um)
1. *F. casuarina*	*Casuarina*	0.3 - 0.5
2. *F. brunchorsti*	*Myrica* & *Comptonia* (?)	1.2 - 2.8
3. *F. alni*	*Alnus*	0.3 - 0.5
4. *F. elaeagni*	*Elaeagnus*; *Hippophae*; *Shepherdia*	0.3 - 0.5
5. *F. ceanothi*	*Ceanothus*	0.3 - 0.4
6. *F. discariae*	*Discaria*	0.3 - 0.4
7. *F. coriariae*	*Coriaria*	0.4 - 0.7
8. *F. dryadiae*	*Dryas*	0.5 - 0.8
9. *F. purshiae*	*Purshia*	0.3 - 0.5
10. *F. cercocarpi*	*Cercocarpus*	0.3 - 0.5

* (From Veeger & Newton, 1984).

تابع جدول رقم (٧- ٣) : الفروق بين أنواع جنس فرانكيا *

Actinomycetes species	Terminal swelling of Hyphae (um)		Polyhedral-shaped cells (um)	Studied by[a]
	Spherical	Clubshaped		
1. F. *casuarina*	-	Length : 3-4; diameter at widest point : 0.6-1.5	0.4 - 1.0	Em[b], LM
2. F. *brunchorstii*	-	Length: 7.5-12.5; diameter at widest point: 1.6-2.4	1.5 - 2.5	EM, LM
3. F. *alni*	3.5 - 5.0; rarely 6.8 - 8.0	-	0.5 - 1.5	EM, LM
4. F. *elaeagni*	2.5 - 4.0; rarely 1.8 - 2.2	-	0.3 - 0.9	LM
5. F. *ceanothi*	1.5 - 3.0; in average approx. 2.0 - 2.5	In younger stages with slowly tapering base	Unknown	EM[b], LM
6. F. *discariae*	Approx. 4.0	-	Unknown	LM
7. F. *coriariae*	-	Length: 9-12 diameter at widest point: 1.2-1.3	Unknown	EM[b], LM
8. F. *dryadiae*	-	Length: 1.5-5.0; diameter at widest point: 1.5-2.0	1.2 - 2.0	EM[b], LM
9. F. *purshiae*	-	Length: 2.5-5.5; diameter at widest point: 2.2-4.4 um	Unknown	LM
10. F. *cercocarpi*	-	Length: 4; diameter at widest point: 3	Unknown	LM

[a] EM, electron microscopy; LM, lignt microscopy.

[b] Becking, unpublished.

* (From Veeger & Newton, 1984).

العقد الورقيــة :Foliar nodules

من المعروف الآن أنه يوجد عقد على أوراق نباتات كثير من الانواع التابعة لعائلـــــة Rubiaceae ،وفي هذه العقد يعيش ميكروبات في حالة تكافلية مع تلك النباتات . وأغلب هذه النباتات التي يوجد بها العقد الورقية عبارة عن نباتات استوائية أو شبه استوائيـــة ، وقد يعود ذلك الى ان هذه النباتات تمتاز باحتواء اوراقها على اعداد كبيرة من الكائنـــات الدقيقة الامر الذي يمهد لقيام علاقات تكافلية بينهما .

وكان أول من لاحظ تلك العلاقات التكافلية (Zimmermann, 1902)* ثـــــم اكدتها الدراسات التي اجراها(Bremen Kamp)*وغيره من الباحثين لمدة ٣٠ سنة حتى عام ١٩٦٠ .

وفي النباتات التي تكون عقدا ورقية (موضح بعضها بالجدول رقم ٧-٤)،فانه يعتقـــد أن البكتريا الموجودة في الافرازات اللزجة تدخل الاوراق عن طريق الثغور ، او من فتحـــات خاصة على حافة الورقة leaf margin ، ومنها الى الخلايا المجاورة التي تنشط وتزداد في الحجم وتكون العقدة، وأغلب هذه البكتريا (المتعاون الصغير micro-symbiont) من انواع عصوية سالبة لصبغة جرام متحركة ، وهي تمد النبات ببعض العناصر الغذائية وبعض المواد المنشطة للنمو مثل السيتوكينين ، ولكن لم يثبت بشكل قاطع انها قادرة على تثبيـــت الازوت .

جدول رقم (٧-٤) : يوضح بعض النباتات معطاة البذور التي تكون عقدا علــــى الاوراق .

Family	Genus	Nodulated sp.
Rubiaceae	Pavetta	grandiflora indica zimmermanniana
	Psychotria	calva punetala
Myrsinaceae	Artemisia	crispa
Dioscoreaceae	Dioscorea	macroura

* c.a. Hardy & Silver, 1977.

والبكتريا داخل العقدة تمر بمراحل متعددة منها العصوى القصير المتحرك ، والعصوى الطويل غير المتحرك ، وطور متعدد الاشكال (بكتيرويد) ومن البكتريا المعزولة من العقد الورقية ، *Bacillus folliicola, Klebsiella rubiacearum, Xanthomonas hortoricola* .

عدد العقد على الورقة يختلف باختلاف نوع النبات ، حيث قد يصل عدد العقد على سطح الورقة فى بعض الانواع الى ٢٠٠ عقدة .



Two leaves of *Psychotria mucronata* showing distinct leaf nodules

شكل رقم (٧-٢٥) : عقد ورقية على أوراق نبات السايكوتوريا .
(From Subba Rao, 1982).

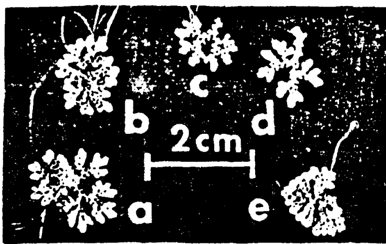
Azolla الازولا

الازولا نوع من السرخسيات المائية water ferns التى تمثل علاقة تعاون وثيقة بيـــن النبات والطحالب الخضراء المزرقة من جنس Anabaena (Azolla-anabaena symbiosis) .



شكل رقم (٧-٢٦) : سرخس الازولا بيناتا . *Azolla pinnata fern.*
(From FAO Soils Bull. No. 49, 1982)

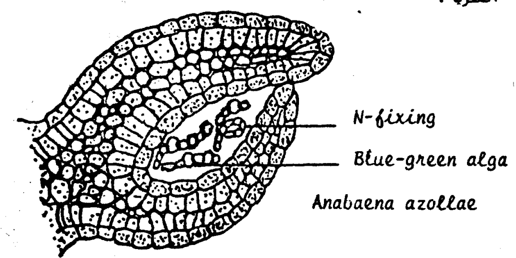
من حيث تبادل نواتج التمثيل الغذائى من كربوهيدرات ونتروجين ، فكلا من النبـــات والطحالب يكونان وحدة واحدة ، ويتم تثبيت النتروجين خلال المعيشة التكافلية ، ولم تنجـح حتى الآن زراعة الطحلب بمفرده بعيدا عن عائلة ، غير انه امكن زراعة العائل بدون الطحلـب اذا ماتوفر له النتروجين المثبت .



Sporophytes of :
(a) A. *caroliniana* ; (b) A. *filiculoides*;
(c & d) A. *mexicana* ; (e) A. *pinnata*.
شكل رقم (٧-٢٧) : انواع مختلفة من الازولا .
(From Subba Rao, 1982).

ومن الوجهة النباتية فأن جنس الازولا يتبــــــع Phylum Pteridophyta, class Hymenophyllaceae, Or. Salviniales, Family Azollaceae وهذه العائلة تكون جراثيم من نــــــوع Hetero spores Free floating وجنس الازولا Azolla يقسم حسب طريقة التكاثر الى ستة أنواع هي *Azolla caroliniana* ، *A. filiculoides*, *A. mexicana* والانواع الثلاث السابقة اكثر انتشـــارا فى أوربا وامريكا أما الانواع الثلاثة التالية *A. microphylla*, *A. pinnata*, *A. nilotica* فتكثر فى المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية وجنوب شرق آسيا ، والنوع الاخير *A. nilotica* وجد بكثرة ايضا فى اعالى النيل والسودان .

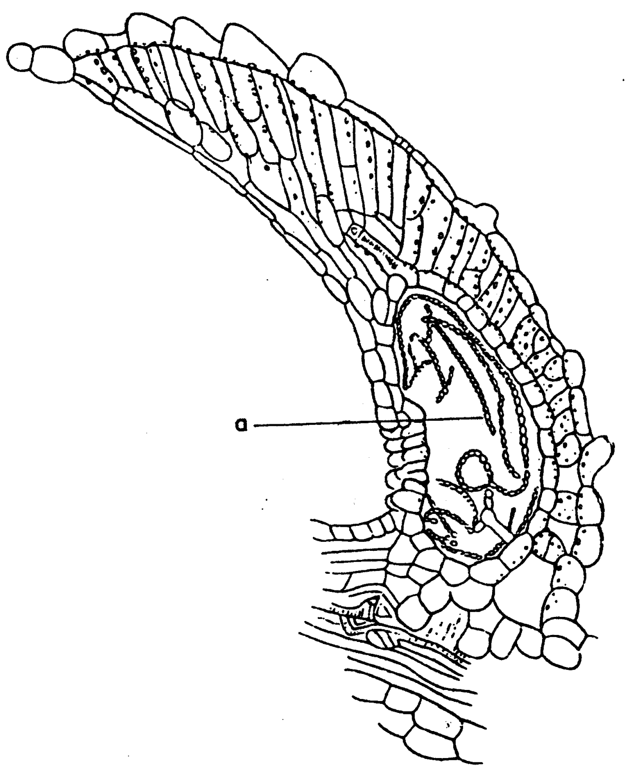
ولقد بدأت فى مصر منذ عام ١٩٧٧ دراسات على تأثير التلقيح بنبات الازولا على نمــــو الارز باستخدام سلالات تم استيرادها من الخارج ، وقد اظهرت التجارب ان النوعيــــــن *A. filiculoides*, *A. caroliniana* اكثر الانواع تجاوبا مع ظروف الاراضـــى المصرية .



Overlapping bilobed leaf of *Azolla pinnata*

شكل رقم (٧-٢٨) : قطاع عرضى فى ورقة الازولا بداخلها الطحلب .

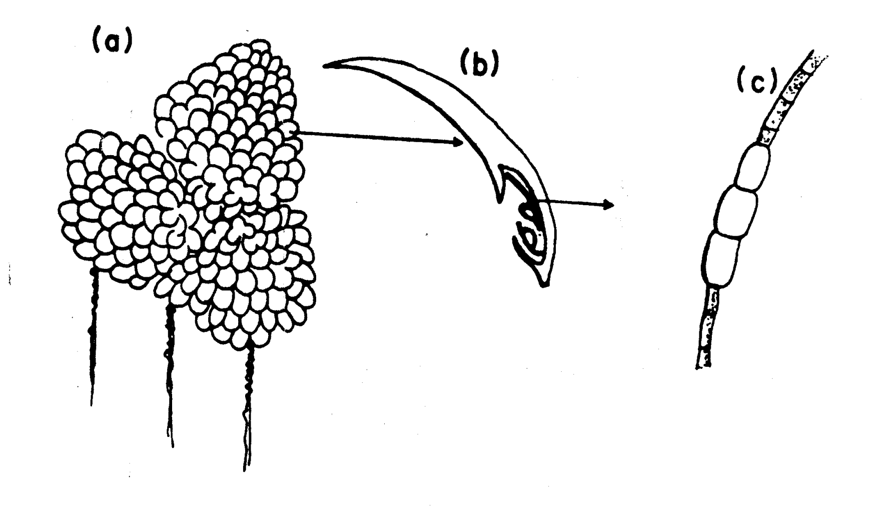
والازولا نبات واسع الانتشار ، فهى توجد فى البحيرات ، جداول المياه ، وفى الحقول المغمورة بالمياه paddy soils فى كل جهات العالم خاصة فى المناطق الاستوائية التى يتكاثر فيها وبسرعة عائما على سطح البحيرات والمستنقعات،فهو من النباتات المائية الطافيـــة المكونة من ريزوم متفرع بالتبادل ، ذو اوراق مفصصة تفصيص ثنائى رأسى overlapped bilobed leaves،وللسرخس جذور رفيعة تتدلى فى الماء الى عمق ٢ سم فى الانــواع الصغيرة او تصل الى عمق ١٠ سم فى الانواع الكبيرة .



Azolla, Section through the upper lobe of a leaf.
a, *Anabaena* filaments.

(From FAO Soils Bull. No. 41, 1978).

شكل رقم (٧-٢٩) : قطاع طولى فى الفص العلوى للازولا .



شكل رقم (٧-٣٠) : سرخس الازولا بيناتا .
أ ـ سرخس ـ(× ١٠) .
ب ـ ورقة وبتجويفها الطحلب الازرق ـ(× ١٠٠) .
جـ ـ خيط طحلب الانابينـا ـ(× ١٠٠٠) .
(From FAO Soils Bull. No. 41, 1978).

والاوراق مثلثة الشكل ، تعوم على سطح الماء فردية أو فى كتل معطية لسطح المـــاء لونا اخضرا محمرا ، لاحتوائها على صبغة الكلوروفيل الخضراء وصبغة الانثوسيانين الحمراء. وقطر الورقة يتراوح مابين ١ - ٢ سم فى الانواع الصغيرة مثل *A. pinnata* ، ويصل الـــى ١٥ سم أو أكثر فى الانواع الكبيرة مثل *A. nilotica*، وللورقة فصان - كما ذكر سابقـــا - فص علوى Ventral lobe رفيع ذو حجم كبير نسبيا يوجد على سطح الماء ويستعمل للطفو، وهو خال من الكلوروفيل تقريبا ، وفص سفلى Dorsal lobe سميك هوائى يحتوى علـــى كلوروفيل ، وبين الفصين وعلى الفص السفلى للورقة يوجد تجويف بيضاوى يتصل بالجو عـــن طريق ثغر ، والسطح الداخلى للتجويف مغطى بطبقة لزجة وفيها يتواجد الطحلب الاخضـر المزرق المثبت للنتروجين ، الذى يعيش مع السرخس معيشة تكافلية Symbiont ، كما يوجد فى تلك المنطقة ايضا مع الطحلب ، أعداد قليلة من البكتريا مثل Pseudomonas وكذلـك شعيرات ناقلة عديدة الخلايا multicelluler transfer hairs وهـــــذه الشعيرات كما يبدو فأنها وسيلة نقل نواتج التمثيل بين السرخس والطحلب .

يتكاثر الازولا خضريا أو جنسيا بتكوين جراثيم من اتحاد الحاسبطات المذكرة والمؤنثة . ويمكن أن تتواجد تلك السرخسيات فى المناطق الشمالية والقطبية ، ولكن معدل تثبيتهـــا للنتروجين سيكون محدودا جدا لان درجة الحرارة المنخفضة تحد من عملية التثبيت .

والظروف المناسبة لنمو الازولا هى توفر بيئة مائية لايقل عمق الماء بها عن عدة سنتيمترات، ودرجة حرارة تتراوح بين ٢٠ - ٢٨ °م ، وتوفر املاح الفوسفات والبوتاسيوم والحديد وتركـــيز ايون الايدروجين بالوسط من ٦ - ٧ ، وارتفاع الرقم الهيدروجينى عن ٧ كما فى الاراضـــى المصرية يسبب صعوبة للازولا فى امتصاص العناصر الغذائية ، ويعالج ذلك باضافة العناصـر الغذائية المطلوبة فى صورة سماد .

ويعتبر النوع *Azolla pinnate mirofila* من الانواع التى تتحمل الحــرارة العالية والفوسفور اللازم لها فى الماء فى حدود ٠.٣ جزء فى المليون .

ويصل نمو الازولا وكفاءتها فى تثبيت الازوت الى اقصاه عند تعرضها لضوء الشمس بمعدل ٤٠ - ٥٠ كيلو لوكس K. lux ويموت الطحلب عند درجة حرارة اقل من ٥ °م أو أكثر مـــن ٤٥ °م ، كما ان ارتفاع الرطوبة النسبية RH يحد من نموه .

ويمكن تنمية الازولا بنجاح فى مشاتل مائية بتوفير الظروف المناسبة واستعمالها كلقـــاح فى الاراضى المزروعة أرزا ، حيث يقوم المتعايش الداخلى Endophyte symbiont وهـو الطحلب ، بتثبيت النتروجين الذى تستفيد منه نباتات الارز وبذلك يوفر من عمليات التسميـــد الازوتى .

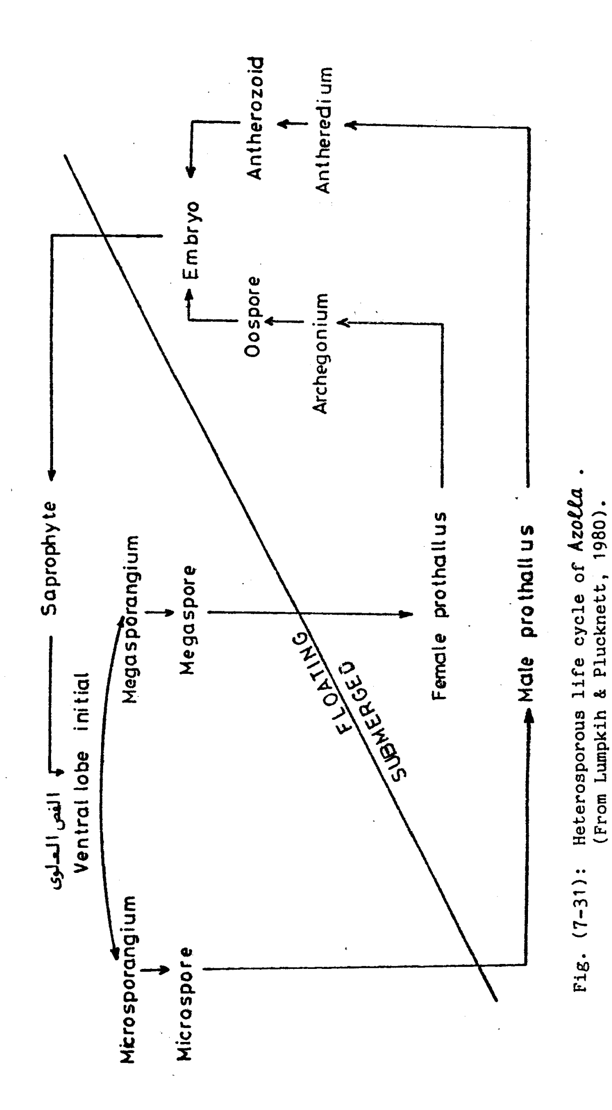


Fig. (7-31): Heterosporous life cycle of *Azolla* . (From Lumpkih & Plucknett, 1980).

ومن العوامل المحددة لانتشار الازولا نسبة الملوحة بالوسط النامية به ، فنمو الازولا يقل تدريجيا كلما زادت نسبة الملوحة ، فاذا وصلت النسبة الى ١ر٣ ٪ فأن النمو يقف ، واذا ما زادت النسبة عن ذلك فأن النبات يموت ، وعلى ذلك فأن نسبة الملوحة يجب أن تدخل فى الاعتبار اذا ما اريد تنمية الازولا بنجاح .

ومن حيث التمثيل الضوئى فأن الازولا تحتوى على كلوروفيل أ ، ب والنظام الضوئى ١ ، ٢ ، أما الطحلب الاخضر المزرق المتعاون مع الازولا فأنه يحتوى على كلوروفيل أ والنظام الضوئى رقم ١ ، كما أنه يحتوى على الصبغة الزرقاء المميزة لتلك الطحالب وهى صبغة الـ Phycocyanin أما عن صبغة الانتوسيانين الحمراء الموجودة بالازولا فأنها تمتص جزءا من الضوء الذى يتعرض له النبات ، وتحوله الى حرارة ، وبذلك تحمى جهاز التمثيل الضوئى الموجود بالنبات من الضرر الناتج عند التعرض لتركيزات عالية من الضوء . الطحلب الاخضر المزرق (Phycobiont) *Anabaena azollae* الذى يوجد داخل نبات الازولا ، هو سلالة متخصصة لهذا النبات ، وهو يتبع Class Cyanophycea, Or. Nostocales, Family Nostocaceae .

والطحلب يعيش داخل نبات الازولا فى شكل خيوط لزجة تملأ فجوات خاصة توجد على سطح الفص السفلى لورقة الازولا . وخيط الطحلب يتكون من خلايا برميلية الشكل وقطرها حوالى ٥ um وطولها حوالى ٨ – ١٠ um ويمكن تمييز ثلاث انواع من الخلايا على الطحلب:

١ – خلايا خضرية وهى مراكز التمثيل الضوئى ، وتمثل حوالى ٦٠ ٪ من الخيط الطحلبى .
٢ – خلايا Heterocyst وهى مراكز تثبيت الازوت ، وتمثل حوالى ٣٠ ٪ من الخيط الطحلبى .
٣ – خلايا Akinetes وهى خلايا ذات جدر سميكة تمثل مرحلة الجراثيم الساكنة بالطحلب resting spores وتتكون من الخلايا الخضرية ، وتمثل حوالى ١٠ ٪ من الخيط الطحلبى ، ويتكاثر الطحلب بهذه الجراثيم او بواسطة خيوط قصيرة تسمى Hormogonia تنبت من جراثيم Akinetes .

ولاغراض الدراسة فأنه يمكن الحصول على الطحلب خاليا من البكتريا المتعايشة معه باستعمال الاشعة فوق البنفسجية او بالمعاملة الحرارية عند درجة ٤٧ ٥م لمدة ١٠٠ ق . كما يمكن الحصول على الازولا الخالية من الطحلب Alga-free azolla بتنمية الازولا تحت ظروف بيئية قاسية من حيث البرودة ، نقص الاضاءة، نقص العناصر الغذائية أو باستعمال المضادات الحيوية مثل البنسلين والاستربتوميسين .

ويمتاز الطحلب وهو داخل النبات من الطحالب المشابهة الموجودة فى الحالة الحرة ، بارتفاع نسبة محتواه من خلايا Heterocysts والتى تصل نسبتها الى حوالى ٣٠ – ٤٠ ٪ ،

وبالتالى ارتفاع معدله فى التثبت النتروجينى بشكل ملحوظ ، وبذلك فأن هذا الطحلـــب المتخصص يعتبر ذو كفاءة عالية فى عملية التثبيت الازوتى التى وجد انها تصل فى المتوســط الى ٢٥٠ كجم نتروجين للفدان خلال ٤ شهور فى موسم الارز،وهى كمية تعادل ½ طن يوريا أو ١ر٢٥ طن من سماد سلفات النشادر . غير أنه فى الظلام فأن معدل التثبيت يقـــل بحوالى ٧٠٪ عما يثبت فى الضوء .

وفوائد استعمال الازولا فى الاراضى المنزرعة ارزا معروفة منذ قرون طويلة فى مناطـــق شرق وجنوب آسيا مثل اليابان والصين والفلبين وفيتنام ، كسماد اخضر وكمصدر أزوتـــــى ، حيث أنه بتلقيح الاراضى المغمورة بالماء المنزرعة ارزا بالازولا ، فأن تلك السرخسيات تنمـو بسرعة مكونة طبقة نمو كثيفة على سطح الماء وتثبت فى أجسامها كميات كبيرة من النتروجـــين . وعند تجفيف الارز ، تجف تلك الطبقة من الازولا وتموت وتتحلل وتتغذى التربة بمخلفاتهـــا الكربونية والازوتية فتحسن من خواصها وتزيد من انتاجيتها .

ونظرا لان نباتات الازولا غنية فى البروتين والمعادن ، فأنه علاوة على استخدامهـــا كسماد عضوى بحقول الارز ، فأنها تستعمل ايضا كغذاء للحيوانات والطيور وفى عمل السماد العضوى الصناعى Compost بالمزارع .

انتقال النتروجين المثبت من الطحلب الى الازولا :

فى غياب النتروجين المرتبط فان الطحلب يقوم بامداد الازولا باحتياجاتها النتروجينية ، ويتم ذلك اساسا على صورة امونيا مع قليل من الاحماض الامينية وتتحول الامونيا الى احمـــاض امينية فى وجود الانزيمات المتخصصة مثل :

glutamine synthetase (GS), glutamate amino-transferase (GAT), glutamate dehydrogenase (GDH).

الازولا فى الزراعة :

عند ادخال الازولا فى دورة زراعية مع الارز ، فأنه يراعى ان فدان الازولا يحتاج الـــى حوالى ٣٠٠ كجم فو٢ أ٥ ، وان زراعة حوالى ٣ كجم ازولا فى شهر نوفمبر تعطى حوالـــى ٥ر٢ طن خلايا رطبة/فدان فى شهر فبراير ، على ان ينظم موعد جمع الازولا حتى لا يتعارض مع موعد بذر وشتل الارز .

وتستطيع الازولا ان تتضاعف مرة كل ٣ ـ ٥ أيام وتعطى محصولا يتراوح ما بين ٣ ـ ١٠ طن/فدان بها من ٥ ـ ٥٠ كجم ازوت ، ويحتوى النبات الرطب على حوالى ٩٤٪ ماء ، ٤٪ أزوت . أما النبات الجاف فيحتوى على حوالى ٦٠٪ كربوهيدرات ، ٢٥٪ بروتين ، ٢٠٪رماد ونسبة ك/ن من ١٠ : ١ الى ٢٠ : ١ ، ويدخل فى تركيبه ايضا السليلوز واللجنـــــين والالياف .

وتتحلل الازولا فى الاراضى الغدقة بعد ٨ – ١٠ أيام من اضافتها للتربة ، ويستفيد منها الارز النامى بالارض استفادة ملحوظة بعد ٢٠ – ٣٠ يوما ، وينساب ثلثى أزوت الازولا بعد ٦ – ٨ اسابيع من نموها بالاراضى الغدقة .

والازولا لاتتحمل الملوحة المرتفعة ، ومن عوامل نجاح زراعتها العمل على وقايتها من الآفات الفطرية والحشرية .

الفصل الثامن

٨- طرق تقدير معدل النتروجين المثبت فى التربة

METHODS FOR MEASURING N_2-FIXATION

يمكن تقدير كمية النتروجين المثبتة فى التربة بواسطة الميكروبات باستخدام طرق تقليدية Classical methods او باتباع طرق حديثة . ومن الطرق التقليدية تقدير الميزان النتروجينى فى التربة وذلك بحساب الفرق بين كمية النتروجين المكتسبة بالتربة والكمية المفقودة منها ، وتحتاج هذه الطريقة الى موسم زراعى كامل .

ومن الطرق الحديثة التى يتم استخدامها الآن فى التقدير طريقة اختزال الاسيتليــــن وطريقة استخدام النتروجين المرقم $^{15}N_2$.

وعموما فأنه من الصعب تقدير كمية النتروجين المثبتة فى التربة باستخدام الطرق المعتادة التى تقدر الزيادة فى النتروجين ، لان الميكروبات المثبتة تقوم بعمليات التثبيت بصفة مستمرة وبكميات قليلة ، ولكن المجموع العام للكمية المثبتة على مدار السنة قد تكون كبيرة ومؤثــــرة . ومما يزيد من صعوبة تقدير الزيادة فى النتروجين بالتربة نتيجة التثبيت ، هو أن نتروجيــــن التربة يتعرض لتغيرات عديدة ، فهناك الفقد بالرشح والفقد بالتطاير ، والذى يتبقى بالتربة هو محصلة الاضافة والفقد ، ومن هنا يصعب تقدير الزيادة الناتجة عن التثبيت .

وللتغلب على تلك الصعوبات ، فتستعمل الآن طرق أخرى مناسبة لتقدير كمية النتروجــين المثبتة بالتربة ، كما تستعمل ايضا للحكم على قدرة ميكروب ما على تثبيت النتروجين ، ومـــن تلك الطرق :-

١ - اختزال مواد اخرى بخلاف N_2. لانزيم النتروجيناز ، الذى يقوم باختزال غاز النتروجين ، القدرة على اختزال مواد اخرى بخلاف النتروجين وتركيبها من نوع N≡N, C≡N, C≡C ومن هذه المواد :

1. Acetylene $C_2H_2 \longrightarrow C_2H_4$
2. Nitrous oxide $N_2O \longrightarrow N_2$
3. Azide $NaN_3 \longrightarrow N_2 + NH_3$
4. Cyanide $HCN \longrightarrow CH_4$
5. Isocyanide $CH_3CN \longrightarrow CH_4$

وقد استخدمت هذه الخاصية لتقييم عملية التثبيت بدون تدخل عوامل التغيير التى تحدث فى النتروجين بالتربة . والطريقة حساسة جدا ، كما ان مستلزماتها ارخص ثمنا من تلـــك المطلوبة فى حالة طريقة $^{15}N_2$.

أ) **طريقة اختزال الاستيلين** Acetylene reduction technique :

بدأ استعمال هذه الطريقة منذ عام ١٩٦٦ فى تقدير قدرة التربة أو الميكروبات علـــى تثبيت النتروجين الجوى ، وأصبحت الآن من أكثر الطرق استخداما لقياس نشاط انزيـــم النيتروجيناز . وتتلخص الطريقة فى أن توضع العينة فى وعاء مناسب مقفول مثل زجاجـــة السيرم أو حقنة البلاستيك،ثم تحقن العينة بغاز الاستيلين C_2H_2 ، ثم تحضن العينـــة على درجة ٢٥ - ٣٠°م لمدة ½-١ ساعة،بعد ذلك تقاس كمية الاثيلين المتكونة C_2H_4 من غاز الاستيلين بواسطة جهاز Gas Liquid chromatography (GLC) .

وبذلك يمكن حساب كمية الاثيلين التى تكونت فى الساعة u moles C_2H_4/hr من المعادلة :

$$C_2H_4 \text{ sample Cu} \times \frac{\text{Vol gas in sample container}}{\text{Vol injected into GLC}} \times \frac{}{\text{assay time hr} \times K}$$

- (minus)

$$C_2H_4 \text{ blank Cu} \times \frac{\text{Vol gas in blank container}}{\text{Vol injected into GLC}} \times \frac{}{\text{assay time hr} \times K}$$

Where :

Cu = Chart units used to measure peak height.

Blank = Sample container with added C_2H_2 only.

K = Conversion factor obtained using a standard C_2H_2 gas mixer to calibrate the GLC.

ويمكن مقارنة عمليتى الاختزال فى حالتى النتروجين والاستيلين كالآتى :

$$N \equiv N + 6\,H^+ + 6\,e^- \longrightarrow 2\,NH_3$$

$$3\,CH \equiv CH + 6\,H^+ + 6\,e^- \longrightarrow 3\,CH_2 = CH_2$$

وعلى هذا فانه من الناحية النظرية فان تثبيت جزىء N_2 يعادل اختزال ٣ جزيئات استيلين ، وعلى ذلك فبقسمة كمية الاستيلين المختزلة على ٣ تنتج كمية النتروجين المثبتة.

ويلاحظ انه قد يحدث فى بعض التقديرات المعملية ان تصبح النسبة ٣ استيليـــن الى ١ نتروجين غير صحيحة بسبب فقد بعض الالكترونات فى تكوين H_2 أو بسبب اختـــلاف كفاءة الميكروب المثبت فى استخدام الايدروجين المتصاعد . ولقد لوحظ ذلك مثلا فـــى ريزوبيا فول الصويا فقد وجد ان معامل تحويل C_2H_2 الى N_2 ليس ٣ : ١ بل تتراوح بين ١-٤ : ١ ، وكذلك فى حالة الطحلب المتعايش بالاشتراك مع الازولا حيث يتراوح معامل التحويل بين ٢-٥ : ١ .

لذلك فانه عند استخدام طريقة الاختزال يجب أن يوضع فى الاعتبار العلاقة الصحيحة بين C_2H_2 المختزل الى N_2 المثبت لعائل معين مع الميكروب الخاص به ، والا فانه يفضل أن تؤخذ المقارنات على أساس كمية C_2H_2 المختزلة ويكون التقدير فى صورة u mole of C_2H_4/hour .

جهاز السبيرموسفير :

يستخدم الآن بكثرة جهاز السبيرموسفير Spermosphere model الموضح شكله بالرسم فى تقدير كفاءة البكتريا على تثبيت الازوت الجوى بطريقة اختزال الاسيتيلين .

وفى هذه الطريقة تلقح بذرة النبات بالبكتريا المناسبة (العقدية للبقوليات ، الازوسبيريلام للنجيليات ... الخ) ، ثم توضع البذرة الملقحة فى الجهاز بالبيئة المعدنية المعقمة الخالية من الكربون والنتروجين ، وبعد النمو ووصول النبات الى طور البادرة ، يحقن الجهاز بغاز الاسيتلين ، وتقدر كمية الاثيلين المتكونة بجهاز GLC .

وبنفس الطريقة يمكن مقارنة كفاءة سلالات مختلفة من البكتريا العقدية على التثبيت التكافلى .

Soba seal
2 ml NaOH
(CO_2 trap)
seedling
Seed
Roots
Mineral medium
(carbon + nitrogen
free)

شكل رقم (٨-١) : Spermosphere model

Fig. (8-1).

ب) طرق الاختزال الاخرى :

لم تنتشر طرق الاختزال الاخرى لتقدير معدل التثبيت ، ففى حالة اختزال N_2O فأن هناك صعوبة فى تقدير N_2 المتكون ، أمافى حالة اختزال Azide or Cyanide فقد وجد انها مثبطة لكثير من انشطة الميكروب للبيولوجية .

٢ - استعمال النتروجين المرقم $^{15}N_2$ tracer technique :

يعتبر استخدام طريقة $^{15}N_2$ الطريقة المناسبة التى تقيم بها الطرق الاخرى ، كما انه بواسطتها يمكن التأكد من قدرة ميكروب جديد على تثبيت الازوت ، نظرا لحساسيتها للكميات الصغيرة من النتروجين الغازى المثبت ولدقتها فى التقدير .

كما ان هذه الطريقة تمتاز عن الطرق الاخرى ، فى انه يمكن عن طريقها تقدير كمية النتروجين بالنبات سواء أكان مثبتا من الهواء الجوى أو ناتجا من الاسمدة المضافة أو من نتروجين التربة أو من العمليات الزراعية الاخرى .

وحديثا امكن استنباط طرق مناسبة يعرض فيها النبات لـ $^{14}CO_2$ مع $^{15}N_2$ لدراسة سلوك الكربون بالنبات بالنسبة للنتروجين المثبت .

ورغم مميزات طريقة $^{15}N_2$ الا انها ليست واسعة الانتشار لان $^{15}N_2$ مرتفع الثمن كما ان الطريقة تستلزم وجود جهاز mass spectrometer المرتفع الثمن ايضا .

التقدير :

من المعروف ان للنتروجين عدد ٦ مشابهات من $^{12}N_2$ الى $^{17}N_2$ ، لكن المستعمل فى التقدير هو $^{15}N_2$ ، وفى هذه الطريقة تحضن العينة فى جو يحتوى على $^{15}N_2$ لمدة ٦ - ١٢ ساعة ، فى نهايتها يمكن بتتبع النتروجين المرقم معرفة مدى عملية تثبيت النتروجين بالتربة ، كما يمكن معرفة الميكروب المثبت ، اذ انه بتنميته فى جو من $^{15}N_2$ فأنه سيمثله فى بروتوبلازم خلاياه .

بعد معاملة العينة بالنتروجين المرقم ، تهضم بطريقة كلداهل ثم تقطر للحصول على الامونيا ، ويختبر الامونيا الناتجة لما تحتويه من $^{15}N_2$ باستخدام سبكترومتر وبذلك تقدر كمية النتروجين المثبتة .

وبالنسبة لتقدير كمية النتروجين المثبت فى نبات ما ، تستخدم طريقة $^{15}N_2$ على نبات مثبت للنتروجين وآخر غير مثبت (للمقارنة) وتقدر كمية النتروجين المثبت من المعادلة التالية :

$$N_2 - \text{fixed} \% = \left(1 - \frac{\% \ ^{15}N \text{ atom excess in fixing plant}}{\% \ ^{15}N \text{ atom excess in non fixing plant}}\right) \times 100$$

ولقد اعطت طريقة الـ $^{15}N_2$ نتائج مشابهة لتلك المتحصل عليها بالطريقة التقليدية المتبعة فى تقدير الميزان النتروجينى بالفرق .

٣ - تقدير الامونيا الناتجة عن عملية التثبيت :

وفى هذه الطريقة تنمى الميكروبات فى انابيب صغيرة مقفلة بها غاز النتروجين ، وبعد عملية التثبيت ، يؤخذ المستخلص الخالى من الخلايا ويقدر به الامونيا المتكونة نتيجة عملية التثبيت باستخدام الطرق اللونية .

وتعتبر هذه الطريقة سهلة وسريعة ولكن يعاب عليها ان كمية الامونيا المقدرة قد تكون اقل من المثبت فعلا لدخولها فى تكوين احماض امينية . ولمنع تحويل الامونيا المثبتة داخل الخلايا الى احماض امينية تستعمل مادة methionine sulphoximine المثبط للنظام الانزيمى glutamine synthetase & glutamate synthase وبذلك يمكن تقدير كل الامونيا الناتجة من عملية التثبيت .

ميكانيكية تثبيت النتروجين الجوى

MECHANISM OF NITROGEN FIXATION

اوضح كثير من الباحثين ان تثبيت الازوت الجوى بواسطة الميكروبات غير العائشة بالاشتراك مثل الازوتوباكتر تشبه الى حد كبير ميكانيكية التثبيت بواسطة الميكروبات العائشة بالاشتراك مثل الريزوبيا .

ولقد وجد ان CO, H_2 يثبطان من عملية التثبيت ، كما ان التثبيط يحدث أثناء تكاثر الميكروبات ، وقد ساعد استخدام كل من نظير النتروجين $^{15}N_2$ وطريقة اختزال الاسيتلين فى تفهم نظام تثبيت النتروجين سواء من الميكروبات التكافلية أو اللا تكافلية .

نظريات تثبيت النتروجين :

من المعروف ان غاز النتروجين N_2 غاز خامل لا يدخل فى التفاعلات الكيماوية بسهولة ، ولتثبيته تحت الضغط والحرارة العادية فى النباتات بواسطة الميكروبات فان ذلك يحتاج الى تنشيطه ، وهذا التنشيط يحتاج الى انزيم او مجموعة انزيمية متخصصة يطلق عليها اسم Nitrogenase وهذا الانزيم موجود فى الميكروبات المثبتة لنتروجين الهواء الجوى ، ويعمل الانزيم على تنشيط النتروجين واتحاده مع الايدروجين على خطوات حتى تتكون الامونيا كناتج اساسى لعملية تثبيت النتروجين .

وقد امكن عزل ذلك الانزيم عام ١٩٦٠ من *Clostridium pasteurianum* وفى عام ١٩٧٥ عزل من ٢٥ ميكروب مثبت لازوت الهواء الجوى من بينها بكتريا الريزوبيا .

مميزات انزيم النيتروجيناز Nitrogenase :

يتكون الانزيم من جزئين بروتينيين Binary enzyme كلاهما اساسى لقيام الانزيـــم بعمله ، ولاتتم عملية اختزال N_2 الا فى وجود الجزيئين معا .

١ - الجزء الصغير

Fe-protein (iron protein), Dinitrogenase reductase

به حديد ولا يحتوى على المولبيدنم ، ووزنه الجزيئى صغير يتراوح مابين ٥٠ الــى ٧٠ ألف ، وهو حساس جدا للاكسجين حيث يفقد ٧٠٪ من نشاطه بتعرضه للهواء لمدة دقيقـــة واحدة . وهو حساس للبرودة cold labile ، وهذا الجزء يتكون من وحدتيـــــــن subunits متشابهتين تماما ويحتوى كل Dimer على ٤ ذرات حديد Fe ، ٤ مجموعات من HS وهو مشابه للفيرودوكسين Ferrodoxin .

٢ - الجزء الكبير Fe-Mo-protein (iron-molybdenum protein), Fe Mo Co, Dinitrogenase.

يدخل فى تركيبه كل من الموليبدنوم والحديد بنسبة ٢٠ : ١ ، وله وزن جزيئى يتراوح ما بين ١٠٠ الى ٣٠٠ ألف ، وهو اقل حساسية للاكسجين من الجزء الصغير وليس بحساس للبرودة ، وهو يتكون من وحدتين الى اربع وحدات (اختلاف الوزن الجزيئى للانزيم يعـــود الى اختلاف الميكروب المعزول منه) .

وفى جميع الخلايا الميكروبية المثبتة للنتروجين فان انزيم النيتروجيناز يوجد فى غشـــاء الخلية وهو حساس جدا للاكسجين غير انه فى حالة طحلب الجليوكابسا فانه يوجد فى اماكـن خاصة داخل الخلية محاطا بما يشبه الاغشية التى تحميه من الاكسجين .

عمل الانزيـــم :

الانزيم حساس جدا للاكسجين اذ انه يتلف عندما يتعرض له ، لذلك فهو يعمل فى جـــو مختزل (pO_2 من ١٠ر٠ الى ٢ر٠ ضغط جوى) .

ويقوم الانزيم بتنشيط واختزال النتروجين الى امونيا

$$N_2 \longrightarrow N \equiv N \xrightarrow{6H^+} 2\ NH_3$$

كما ان للانزيم القدرة على اختزال بعض الجزيئات ذات الروابط الثلاثية مثل الاسيتلين $CH \equiv CH$ الى اثيلين $CH_2 = CH_2$. وكذلك اختزال ايونات الايدروجين الـــــى ايدروجين غازى ($H_2 \leftarrow H^+$) .

ويقوم الانزيم بتحويل ATP الى ADP ويستخدم الطاقة الناتجة فى عملية التثبيت، ونظرا لان تثبيت جزئ N_2 يحتاج الى ١٥ جزئ ATP، (15 moles ATP/N_2 Fixed)

فان الانزيم يحتاج الى كمية كبيرة من ATP كمصدر للطاقة وايضا الى مصدر لعملية الاختزال أى مصدر للامداد بالايدروجين والاليكترونات . واضافة الى ذلك فان الانزيم يحتاج اثناء نشاطه الى المغنسيوم Mg^{++} .

يقوم الجزء الكبير من الانزيم بالارتباط بالنتروجين وباختزاله،بينما يتحد الجزء الصغير من الانزيم بالـMg^{++}, ATP لتوليد الطاقة اللازمة لاختزال النتروجين فى الجزء البروتينى الآخر . واثناء عملية تثبيت النتروجين ، يلعب الحديد فى كلا جزئى الانزيم دورا فى نقل الالكترونات اللازمة لعمليات الاكسدة والاختزال ، وتفاعل اختزال النتروجين الى امونيا تمثله المعادلة التالية :

$$N_2 \longrightarrow N \equiv N \xrightarrow[+\ n\ ATP]{+\ 6H\ +\ 6e^-} 2NH_3 + n\ ADP + Pi$$

ويمكن توضيحه بالتفاعلين الآتيين :

١ - تكوين الاليكترونات

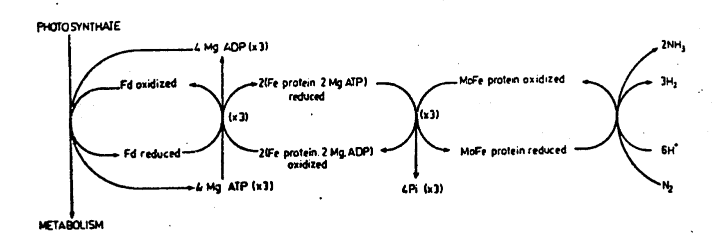
$$ATP + reductant\ (H_2) \longrightarrow ADP + Pi + e^-$$

٢ - تفاعل مادة التفاعل

$$Reducible\ substrate\ (e.g.\ N_2,\ C_2H_2...) + e^- \longrightarrow reduced\ product$$

يدخل الاليكترون فى عملية الاختزال بالنيتروجيناز :

$$Reductant \xrightarrow[ATP\ \curvearrowright\ ADP\ +\ Pi]{e^-} Nitrogenase \quad (N_2 \rightarrow NH_3)$$



(From Subba Rao, 1982).

شكل رقم (٨-٢) : المسار الحيوى لاختزال النتروجين الى امونيا .

والطاقة ATP اللازمة لنشاط الانزيم تتولد بتركيزات مناسبة مع نشاطه ، والا فـــأن زيادتها يحد من نشاط الانزيم ، وقد ثبت هذا من التجارب المعملية التى اجريت علـــى مستخلص خلايا الطحالب الخضراء المزرقة ، ووجد ان الطاقة اللازمة لنشاط الانزيم تنســاب بالتركيزات المناسبة من تحول الفوسفوكرياتين الى كرياتين بانزيـــــم Creatine phosphokinase حسب المعادلة التالية :

$$\text{Creatine phosphate} \xrightarrow[\text{Creatine phosphokinase}]{\text{ADP + pi} \rightarrow \text{ATP}} \text{Creatine}$$

والشكل رقم (٨-٣) يوضح تفاعلات انزيم النيتروجيناز .

الاحتياجات اللازمة لعملية التثبيت النتروجينى :

تتطلب عملية التثبيت النتروجينى بواسطة الكائنات المجهرية توفر الاحتياجات الاساسيـة التالية :

١ - انزيم النيتروجيناز بالميكروب .
٢ - مصـدر الطاقة ATP .
٣ - مصدر القوة الاختزالية .
٤ - نظام لحماية انزيم النيتروجيناز من التثبيط باكسجين الهواء الجوى .
٥ - الازالة السريعة لنواتج التثبيت النتروجينى من الموقع الذى يتم فيه التثبيت بالميكــروب الى خلايا النبات العائل ، وذلك فى حالة المعيشة التعاونية ، والا فان تراكم نواتـج التثبيت بالميكروب تؤدى الى تثبيط انزيم النيتروجيناز .

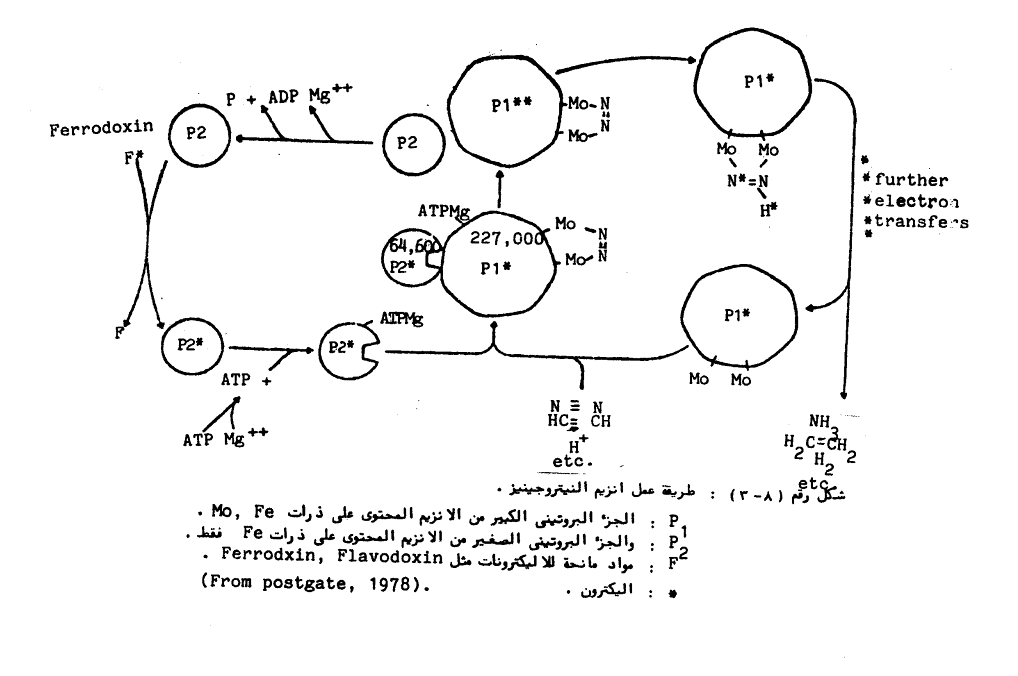
توفير الميكروب للوسط المختزل اثناء عملية التثبيت :

انزيم النيتروجينيز كما ذكر سابقا حساس للاكسجين ولكى يقوم بعملية تثبيت النتروجـــين الجوى يلزم توفير وسط مختزل له .

توفير الوسط المختزل بابعاد الاكسجين لا يمثل مشكلة بالنسبة للميكروبات المثبتة اللاهوائية مثل Clostridium والاختيارية مثل Klebsiella, Enterobacter والممثلة للضوء مثل Rhodospirillum .

حيث ان هذه الميكروبات تستطيع بطبيعة نظامها الفسيولوجى ان تعمل فى وســـــط لاهوائى وبذلك يبقى مستوى الاكسجين Oxygen tension منخفضا فى الوسط الدقيـق المحيط بعملية التثبيت .

أما الميكروبات الهوائية فأنها تلجأ الى وسائل عديدة لتوفير الوسط المختزل اللازم لعملية التثبيت منها :



شكل رقم (٨-٣) : طريقة عمل انزيم النيتروجينيز .

P_1 : الجزء البروتيني الكبير من الانزيم المحتوى على ذرات Mo, Fe .

P_2 : والجزء البروتيني الصغير من الانزيم المحتوى على ذرات Fe فقط .

F : مواد مانحة للاليكترونات مثل Ferrodxin, Flavodoxin .

* : اليكترون .

(From postgate, 1978).

١ - ميكروبات الازوتوباكتر تمتاز بمعدل تنفسها العالى اذا ماقورنت بباقى الميكروبات ، لانتاج الـ ATP وزيادة استهلاكها للاكسجين ، وبذلك يصبح احد اهداف التنفس الهوائى بهذه الميكروبات عمل مايسمى بحماية تنفسية Respiratory protection لحماية انزيم النيتروجينيز من الاكسجين الجوى ، حيث يتم ازالة الاكسجين من حول مراكز تثبيت النتروجين بمعدل التنفس العالى . وبالاضافة الى ذلك ، فأن بروتين انزيم النيتروجيناز فى خلايا الازوتوباكتر بالذات ، يتميز بأن له خاصية القدرة على التغيير فى الشكل الفراغى Conformational change وهذا يعنى أنه عند وجود الاكسجين يتغير التركيب الفراغى لبروتين الانزيم ، ويفقد قدرته على التثبيت وبغيابه فأن الانزيم يعود الى نشاطه المعتاد .

٢ - بالنسبة للـ Beijerinckia & Derxia فانها تحيط نفسها بطبقة لزجة سميكة تعوق دخول الزيادة من الاكسجين .

٣ - فى حالة ميكروب الـ Azospirillum وهو هوائى فانه يثبت النتروجين تحت ظروف microaerophilic ، عند pO_2 اقل من ٠،٠١ جوى . ورغم ذلك فقد لوحظ أن الأزوسبيريللام المتعايش مع جذور قصب السكر يثبت النتروجين تحت ظروف هوائية . ويتم ذلك بعد حدوث تغير فى شكل الميكروب من الشكل الواوى Vibrio form الى الشكل الكروى Cocci form . وتتميز بكتريا الازوسبيريللام ذات الشكل الكروى عن تلك ذات الشكل الواوى فى أن لها كابسول من lipo polysaccharide تحيط بميكروب أو أكثر ، تحد من حركته ، بالاضافة الى أن البكتريا الكروية الشكل تحتوى على المادة المخزنة PHB بكمية أكبر عما يوجد عادة فى البكتريا ذات الشكل الواوى . ويعتقد أن هذا الكابسول يعطى حماية لانزيم النيتروجيناز من اكسجين الهواء الجوى .

٤ - أما بالنسبة للطحالب الخضراء المزرقة فأن هناك من الشواهد مايوضح بأن أنزيم النتروجينيز يوجد فى خلايا خاصة بالطحالب تسمى Heterocyst ، وهى لاتحتوى كلوروفيل بخلاف الخلايا الخضرية الاخرى الموجودة بالطحلب والتى تقوم بعملية التمثيل الضوئى الخاصة بأخذ CO_2 واخراج O_2 . وبذلك فأن Heterocyst الطحلب يوفر لانزيمات التثبيت البعد عن أماكن انتاج الاكسجين .
أما الطحالب الخضراء المزرقة المثبتة للنتروجين ولاتحتوى على هيتيروسيست ، فانها تقوم بعملية التثبيت تحت ظروف لاهوائية حماية للانزيم . أما طحلب الجليوكابسا فأنه يحيط الانزيم بما يشبه الاغشية التى تحميه من الاكسجين .

٥ - فى حالة البكتريا العقدية ، فمن المعروف ان الميكروب يثبت النتروجين وهو فى طور البكتيرويد داخل العقدة الجذرية الفعالة . هذه العقد تحتوى على صبغة حمراء

من الهيموجلوبين وتسمى Leghaemoglobin وهى تقوم بعمل المحلول المنظم Buffer بالنسبة للاكسجين حول الميكروب المثبت بالعقدة الجذرية ، فتتحد الصبغة بالاكسجين عند تراكمه وتحرره منها بالكميات المناسبة لعمليات التمثيل الغذائى الاخرى.

٦ - رغم أن pO_2/kPa الامثل للتثبيت فى حالة الرايزوبيا هو ١ر. أو أقل من ذلك ، الا انه فى حالة الفرانكيا يصل الى ٥ر. ، والسبب فى أن الفرانكيا تثبت الازوت عند هذا المعدل المرتفع يعود الى أن النظام الانزيمى الخاص بالتثبيت يقع فى الاوعية vesicles (انتفاخات بالهيفا ، تشبه الهيتروسيست بالسيانوبكتريا) . هذه الاوعية محاطة بجدر خارجية تحد من نفاذية الاكسجين الى داخلها ، وبذلك يتوفر للجهاز الانزيمى المثبت pO_2 منخفض . بالاضافة الى ذلك ، فان ارتفاع معدل التمثيل بالاوعية يساعد ايضا على خفض pO_2 بها .

توفر هذه الظروف بالفرانكيا يفسر قدرتها على تثبيت الازوت حتى فى الجو العادى ، ويوضح ايضا أن هيموجلوبين عقد الفرانكيا الجذرية ، حتى وأن وجد ، لا دور له فى عملية تنظيم الاكسجين بالعقدة ، بعكس مايحدث فى حالة الرايزوبيا .

منظمات عمل الانزيم Regulators :

يقوم الانزيم اثناء نشاطه بتحويل ATP ⟵ ADP لذلك فأن نسبة ATP:ADP حول الانزيم تحدد الى أى مدى سيكون معدل عمل الانزيم .

وبالاضافة الى ذلك فأن الامونيا وهى الناتج الوسطى الاساسى الهام لعمل الانزيم تحدد معدل نشاطه ، اذ أنه اذا ماتكونت كمية من الامونيا أكبر من حاجة الميكروب فأنها تثبط عمل الانزيم ، كما أن الاكسجين والموليبدنم ينظمان عمل الانزيم .

ويثبط من نشاط الانزيم ارتفاع ضغط الاكسجين pO_2 فى الارض عن ٢ر. ضغط جوى ، أو اضافة نتروجين مرتبط combined nitrogen كما هو الحال فى السماد النتروجينى .

الامونيا كمركب وسطى :

لقد امكن اثبات ان الامونيا هى المركب الوسطى الاساسى الذى يتكون أثناء عملية التثبيت من الشواهد الآتية :

١) عند استخدام نظير النتروجين ^{15}N فأنه يظهر بعد فترة قصيرة فى هذه الميكروبات فى مركب الامونيا .

٢) وجد انه عند امداد هذه الميكروبات بالامونيا بدلا من غاز النتروجين الجوى فأن الامونيا تمثل بدون فترة تحضيرية lag period .

٣) اتضح باستخدام نظير النتروجين N^{15} ان الحمض الامينى الاول الذى يظهر فيـــه هذا النظير هو حمض الجلوتاميك glutamic acid وعند امداد الميكروبات بالامونيا المحتوية على N^{15} بدلا من النتروجين الجوى فأن النظير N^{15} أول مايظهر يكـــون ايضا فى حمض الجلوتاميك .

٤) عند امداد الميكروبات المثبتة للنتروجين الجوى بالامونيا فأ ن عملية التثبيت تتوقف .

أما من حيث المركبات الوسطية التى تتكون عند تحويل نتروجين الهواء الجوى الى امونيا بفعل انزيم النيتروجيناز ، فكان يعتقد تكون المركبات التالية :

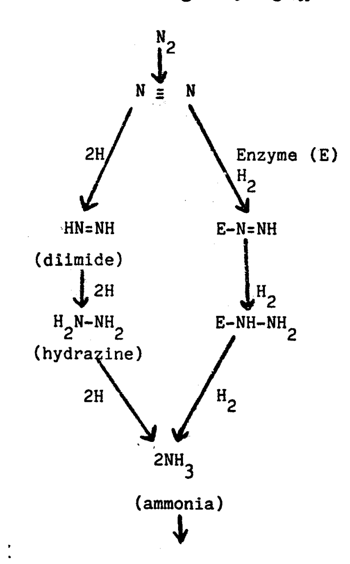
$$N_2 \xrightarrow{2H^+} NH = NH \xrightarrow{2H^+} NH_2 - NH_2 \xrightarrow{2H^+} 2\ NH_3$$

diimide hydrazine ammonia

ولكن الاتجاه الآن يرجح أن الانزيم يتحد مع N_2 ثم يختزل المركب الناتج تدريجيا الى أن تنفرد فى النهاية الامونيا حسب المعادلة :

$$N_2 \longrightarrow N \equiv N + \text{Enzyme (E)} \xrightarrow{H_2} E - N = NH \xrightarrow{H_2} E - NH - NH_2 \xrightarrow{H_2} E + 2\ NH_3$$

ويمكن توضيح خطوات عملية تثبيت النتروجين الجوى كالآتى :



```
Ammonia
        |
-2H2O   |  + 2HOOC-CH2-CH2-C(=O)-COOH  <---  Carbohydrate
        |                                     metabolism
        v
2 HOOC-CH2-CH2-C(=NH)-COOH
(iminoglutaric acid)
        |  + 4H
        v
2 HOOC-CH2-CH2-CH(NH2)-COOH
(glutamic acid)
        |
        v
Other amino acids
        |
        v
Protein
```

*(Postulated mechanism of biological N_2-Fixation)

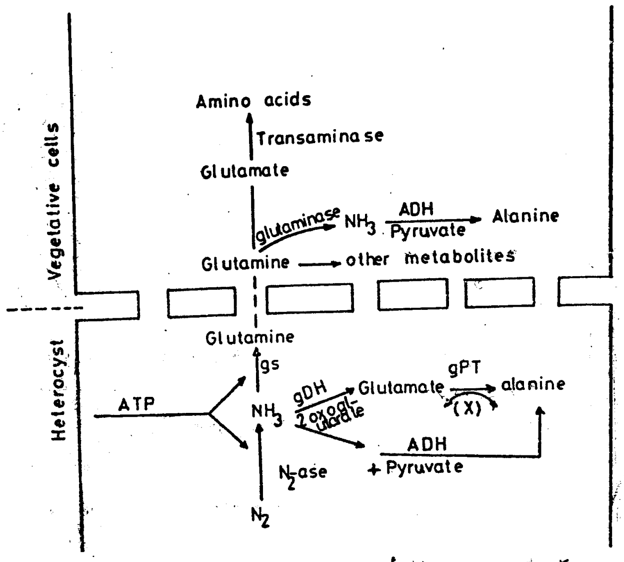
والامونيا الناتجة من التثبيت عامل مثبط لنشاط النيتروجيناز ، وهى لاتتجمع داخل الخلية الميكروبية ولكنها اما ان تنساب الى خارج الخلية كما يحدث فى بعض الحالات ، أو ـ وهذا هو الاغلب ـ تتحول الى احماض امينية باتحادها مع الاحماض العضوية بالخلية .

ومن المعروف أن حمض الجلوتاميك والاسبارتيك يعتبران من أوائل الاحماض الامينية التى تتكون فى عملية التثبيت النيتروجينى ومن هذين الحامضين تتكون باقى الاحماض الامينية عن طريق نقل مجاميع الامين Transamination الى الحامض الكيتونى المناسب .

كما يعتبر تكون الجلوتامين Glutamine من الامونيا ثم استخدام مجموعة الامين من هذا المركب لتكوين مختلف الاحماض الامينية،احد الوسائل الاساسية لتكوين الاحماض الامينية المطلوبة لبناء البروتين فى خلايا الميكروبات المثبتة للنتروجين الجوى .

وقد علل تثبيت الميكروبات غير الهوائية مثل الكلوستريديا،كنتيجة للاختزال المباشر للنتروجين الى امونيا بواسطة الايدروجين الذرى ن ≡ ن $\xrightarrow{\text{٦ يد}}$ ٢ ن يد ٣ ،والظاهر أن الانزيمات الخاصة بالتثبيت فى الكلوستريديا تخالف الانزيمات الخاصة بالعملية المذكورة فى الميكروبات الهوائية ، فبينما نجد أن عملية التثبيت تقف فى الاخيرة فى وجود الامونيا أو الايدروجين أو CO_2 نرى أنه فى حالة الكلوستريديا لاتتأثر العملية بالمواد المذكورة .

* c.a. Taha and Mahmoud, 1966.



شكل رقم (٨-٤) : علاقة أنزيم النيتروجينيز ببعض الانزيمات الممثلة للامونيا في طحلب *Anabaena cylindrica* .

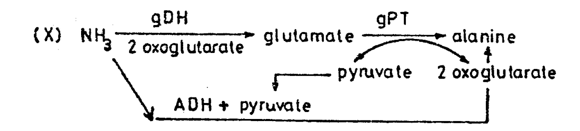
ATP from photo & /or oxidative phosphorylation

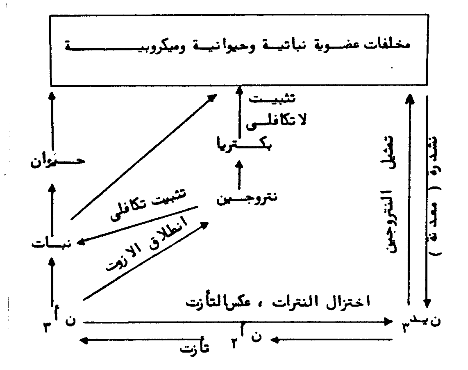
gDH glutamic dehydrogenase

ADH alanine dehydrogenase

gPT glutamate pyruvate amino-transferase

gs glutamine synthetase





شكل رقم (٨-٥) : دورة النتروجـــين .

العامل الوراثى المثبت للنتروجين :

Genetic Factor of Dinitrogen Fixation

لفتت الطريقة التى تثبت بها كائنات البروكاريوتا النتروجين الجوى نظر كثير من الباحثين، ولقد وجد أن العامل الوراثى المسئول عن عملية التثبيت بتلك الكائنات هـــــــو Nif⁺ gene (Nitrogen fixation gene) ويحمل هذا العامل جزء من الـ DNA الموجود بكروموسوم الخلية البكتيرية . وقد امكن نقل هذا العامل الوراثى مـن ميكروب لآخر بواسطة العبور باستخدام $Phage\ P_1$ كما فعل (Steicher, 1971)* او بواسطة التزاوج كما فعل(Postgate, 1972)* .

فقد تمكن Postgate من نقل هذا العامل من كائنات مثبتة للنتروجين مثـــل *Klebsiella pneumoniae* nif⁺ donor الى اخرى غير مثبتة مثـل *E.coli*, nif⁻recipient وبذلك اكتسبت *E.coli* صفة تثبيت النتروجين الجوى (تحـت الظروف اللاهوائية) . وبمثل هذه التجارب وبغيرها من التجارب الوراثية الاخرى وتجـارب احداث الطفرات ، فقد امكن معرفة العوامل الوراثية المتحكمة فى انزيم النيتروجيناز والمؤثرة فى عملية التثبيت عموما بما فى ذلك العدوى بالميكروب ، والعلاقات التعاونية فى حالـــة البكتريا العقدية ... وغيرها .

وعموما فأن الاحتياجات الاساسية لاتمام عملية تثبيت النتروجين الجوى تتطلب الآتى :

١ - وجود Nif gene بالميكروب .

---

* c.a. Postgate, 1978.

٢ - توفر ظروف لا هوائية لانزيم النيتروجيناز .
٣ - توفر مصادر طاقة فى صورة ATP .
٤ - وجود مصدر للمادة المختزلة Reductant .
٥ - توفر نظام - فى حالة المعيشة التعاونية - لنقل المواد المختلفة من والى الخلايا المحتوية على النيتروجيناز مثل :

أ - وجود منافذ pores بين خلايا الطحلب الخضرية الممثلة للضوء وخلايا Heterocyst المثبتة للازوت .

ب - اتصال الميكروب المثبت بالجهاز الوعائى الناقل للنبات العائل وذلك كما فى حالة بكتريا العقد الجذرية فى النباتات البقولية وغير البقولية .

جـ - وجود تحورات بيوكيمائية فى كل من الميكروب المثبت والنبات العائل (كما فى حالة الاشنات) تجعل العائل يستفيد من الازوت المثبت ، وذلك كما فى حالة زيادة نشاط الانزيمات المثبتة للامونيا بالطحلب مثل انزيمات glutamic synthetase ، glutamic dehydrogenase ، وازدياد نشاط هذه الانزيمات بالنبات العائل يجعله يستفيد من الازوت المثبت .

د - وجود شعيرات ناقلة لنواتج التمثيل الغذائى مابين الطحلب والسرخس ، كما يحدث فى حالة المعيشة التعاونية مابين الازولا والطحلب .

نقل العامل الوراثى المثبت للازوت الى النباتات الراقية :

تجرى الآن محاولات لنقل العامل الوراثى المثبت للازوت من الميكروبات الى كائنات أخرى أكثر رقيا كالنباتات الراقية . وحتى الآن فان هذه العملية يقابلها مجموعة من الصعوبات ، من ذلك :

١ - يتحكم فى العامل المثبت للازوت ١٨ جين على الاقل ، ومن الصعب نقلها جميعا بكفاءة عالية .
٢ - بالاضافة الى ذلك فان الامر يتطلب ايضا نقل الجينات المنظمة لعملية التثبيت regulators مثل تلك المنظمة لافراز انزيم glutamic synthetase .
٣ - صعوبة نقل الجينات اللازمة جميعا الى موقعها المناسب تماما فى الخلية الجديدة .

وتزداد هذه العملية صعوبة عند محاولة جعل بكتريا الرايزوبيا تتعايش مع جذور النجيليات وتثبيت الازوت فى حالة تعاونية ، لان ذلك سيتطلب ايجاد عوامل وراثية جديدة بالنبات النجيلى لم تكن موجودة من قبل ، منها على سبيل المثال :

١ - توفير ١٥٠ جين على الاقل وهى المرتبطة بتثبيت الازوت فى الحالة التعاونية .
٢ - توفير الجينات الخاصة بتكوين Leghaemoglobin اللازمة للبكتريا فى طور البكتيرويد . وهذه الجينات يتحكم فى تكوينها النبات العائل .

الفصل التاسع

٩- الاسمدة (المخصبات) الحيوية

BIOFERTILIZERS

منذ أن بدأ التعرف فى بداية هذا القرن ، على الدور الذى تلعبه البكتريا العقدية فى زيادة انتاجية المحاصيل ، بتثبيتها للازوت الجوى فى العقد الجذرية للنباتات البقولية ، اتجهت الانظار الى استخدام احياء التربة الدقيقة كوسيلة من خلال نشاطها ، لمد النباتات النامية ببعض احتياجاتها الغذائية . ومن هنا بدأ استخدام اصطلاح "اسمدة حيوية "الذى يقصد به كل الاضافات ذات الاصل الحيوى التى تمد النبات النامى باحتياجاته الغذائية . مثل هذه الاضافات يمكن ان تسمى ايضا باللقاحات الميكروبية Microbial inoculants .

تعتبر الاسمدة الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن جدا اذا ماقورنت بالاسمدة المعدنية . وتنتج الاسمدة الحيوية من الكائنات المجهرية ، باختبار الميكروب المطلوب ثم باكثاره فى مزارع ملائمة ، ثم نقل النمو الى حامل مناسب حيث يحفظ تحت ظروف ملائمة لحين استعماله كلقاح للبذور او بالتربة .

ومن امثلة الاسمدة الحيوية ذات الاهمية الاقتصادية الكبيرة :

١ - لقاحات الرايزوبيا للبقوليات والتى بدأ منذ سنوات طويلة تسويقها على نطاق تجارى فى بلاد عديدة ، وأصبحت فى الثلاثين سنة الاخيرة تستعمل كلقاحات للتربة أو للبذور فى أغلب بلاد العالم .

٢ - المنتج المسمى Azotobacterin المحتوى على *Az. chroococcum* ، الذى يضاف للتربة ليمد النبات باحتياجاته من النتروجين من خلال تثبيته للنتروجين لاتكافليا .

٣ - زيادة المعلومات المتاحة الخاصة بعلاقات الازوسبيريلام بالنباتات ، أدت الى استخدام هذا الميكروب كلقاح لبذور النجيليات كمثبت لازوت الهواء الجوى ، خاصة فى الدول النامية حيث يصعب الحصول على مايكفى من الاسمدة الآزوتية المعدنية .

٤ - التقدم المستمر فى البحوث الخاصة بالفرانكيا كمثبت للازوت فى غير البقوليات ، مكن القائم بالانتاج الزراعى من استخدام هذه الكائنات كلقاحات بالاراضى لزيادة انتاجيتها .

٥ - فى الاراضى الغدقة المنزرعة ارزا ، فان الميكروبات المثبتة للازوت الممثلة للضوء مثل الطحالب الخضراء المزرقة ، تساهم فى امداد نبات الارز بجزء كبير من احتياجاته الآزوتية ، بالاضافة الى ماتفرزه من مواد منشطة للنمو . لذلك فان انتاج لقاحات من الطحالب الخضراء المزرقة لاستخدامها كلقاح بالارض المنزرعة ارزا ، اصبح يتم الآن على نطاق تجارى كبير .

٦ - فى السنوات الاخيرة ، فقد تأكد الدور الهام الذى تلعبه الازولا فى مزارع الارز من حيث تثبيت الازوت وكسماد عضوى للتربة .

واصبحت الازولا الآن تنمى فى مزارع مائية مناسبة لاستخدامها كلقاح فى مزارع الارز، كما يمكن تنميتها فى مزارع الارز بعد عملية الشتل .

٧ - بالاضافة الى ماذكر سابقا بالنسبة للتسميد الحيوى بلقاحات الميكروبات المثبتة للازوت الجوى ، فان التسميد الحيوى يضم ايضا لقاحات لكائنات لها دور هام فى تيسير فوسفات التربة للنبات ، وبذلك تمده باحتياجاته الفوسفورية من هذه اللقاحات :

أ - لقاح فطريات الميكورهيزا الذى يفيد الكثير من المحاصيل خاصة فى المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية التى تعانى تربتها من زيادة تثبيت الفوسفات بها ، بالاضافة الى ان الحرارة العالية تساعد على زيادة نشاط اللقاح الفطرى ، وذلك عن اراضى المناطق المعتدلة أو الباردة .

ب - المنتج المسمى Phosphobacterin المحتوى على بكتريا *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* ذو الكفاءة العالية فى اذابة الفوسفات غير الذائبة بالتربة . ويستعمل هذا اللقاح بكثرة فى الاتحاد السوفيتى وبلدان اوربا الشرقية لزيادة تيسير الفوسفات بالتربة الزراعية .

وبالاضافة الى ان اللقاحات الميكروبية تؤدى الى زيادة الاستفادة من عملية تثبيت الازوت والى تيسير الفوسفات بالتربة ، فان هذه اللقاحات تفرز موادا منشطة لنمو النباتات تساعد على انبات البذور ونمو الجذور كما انها تفرز الكثير من المضادات الفطرية . وقد سبق الكلام تفصيلا عن هذه الميكروبات ، فى أجزاء سابقة من هذا الكتاب .

الاحتياجات السمادية المعدنية لمصر :

تبلغ المساحة المنزرعة فى مصر حاليا حوالى ٦ مليون فدان ، وهذا يمثل $\frac{1}{٣}$ من المساحة الكلية التى تقدر بحوالى مليون كيلو متر مربع .

وتقدر الاحتياجات السنوية من الاسمدة المعدنية للمساحة المنزرعة حاليا بحوالى ٠ر٥ مليون طن سماد آزوتى ٥ر١٥ ٪ N ، ٠ر١ مليون طن سماد فوسفاتى (سوبر فوسفات ٥ر١٥ ٪ فو٢ أ٥) ، ٣٠٠ ألف طن سماد بوتاسى (كبريتات بوتاسيوم ٠ر٥٠ ٪ K_2O) .

الانتاج الحالى من سماد السوبر فوسفات (١ر١ مليون طن / سنة) يكفى الاستهلاك ، بينما الانتاج من الاسمدة الآزوتية (٣ر٤ مليون طن سنويا ، ٥ر١٥ ٪ أزوت) لا يكفى لتغطية الاحتياجات المطلوبة خاصة وأنه من المنتظر زيادة تلك الاحتياجات مستقبلا مع توالى الاستصلاح والاستزراع .

ومن هنا يتضح أهمية استخدام الاسمدة الحيوية كوسيلة لمد النباتات باحتياجاتهـــــا الغذائية .

١٠– اثر الميكروبات فى تحولات الكبريت فى التربة الزراعية

MICROBIAL TRANSFORMATION OF SULPHUR IN SOIL

يعتبر الكبريت عنصرا هاما فى تغذية النبات ويوجد فى التربة الزراعية بنسبة ١١ر٠ ٪ فى المتوسط. ويجد طريقه اليها من المصادر الآتية :

١) بقايا النباتات وخاصة التابعة للعائلة الصليبية .
٢) المتخلفات الحيوانية .
٣) الاسمدة المحتوية على كبريتات مثل السوبر فوسفات .
٤) الكبريت الذى قد يضاف الى التربة الزراعية كمخصب وخاصة للاراضى القلوية .
٥) مياه الامطار .

وعادة يوجد الكبريت فى المواد العضوية على صورة مجاميع سلفهيدريل Sulfhydryl group (-SH) ، ومن امثلة ذلك وجوده فى بعض الاحماض الامينية مثل cystine, cysteine والميثونين Methionine وكذلك فى بعض المركبات الاخرى مثل الجلوتاثيون والثيويوريا . كما يدخل فى تركيب بعض الفيتامينات مثل الثيامين والبيوتين .

أما صور الكبريت غير العضوية فهى مختلفة وأهمها :
الكبريتات والكبريتيت والثيوكبريتات والتتراثيونات وكبريتور الايدروجين والكبريت .

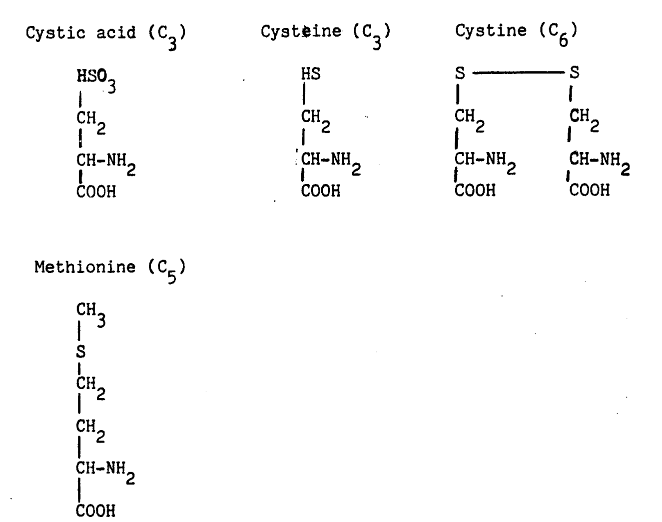
والمعروف ان النباتات النامية تأخذ احتياجاتها من الكبريت فى صورة كبريتات . وتتعرض مركبات الكبريت فى التربة لعديد من التغيرات تتضمن الآتى :

١) معدنة الكبريت العضوى Organic sulfur mineralization .
٢) تمثيل مركبات الكبريت المعدنية فى اجسام الميكروبات Inorganic sulfur immobilization .
٣) اكسدة مركبات الكبريت المعدنية Oxidation of inorganic sulfur compounds .
٤) اختزال الكبريتات sulfate reduction .

وسيادة أى نوع من هذه التحولات تتحكم فيه العوامل البيئية السائدة مثل نوع التربة ومحتواها من المادة العضوية وحالة التهوية وغيرها من العوامل .

وتتشابه التغيرات البيولوجية فى دورتى الكبريت والنتروجين لحد كبير، فالعنصران يدخلان فى تركيب البروتين ويدخلان فى تركيب المادة العضوية فى التربة فى الصورة المختزلة ولابد من حدوث معدنة حتى يصبحان فى صورة ميسرة للنبات . كما ان اكسدة مركبات الكبريت

المعدنية تشبه لحد كبير عملية التأزت فى دورة النتروجين ، كما ان الظروف الملائمة لاختزال النترات هى نفسها الظروف الملائمة لاختزال الكبريتات . وعلاوة على ذلك فأن الصفات الفسيولوجية لميكروبات المعدنة والاكسدة والاختزال متشابهة فى الدورتين لحد كبير . ومما يذكر أن تحلل المواد العضوية بيولوجيا فى الاراضى والمياه ينتج عنه حوالى ١٠^٩ - ١٠^١٠ كجم كبريت سنويا .



Sulfur amino acids

شكل رقم (١٠-١) : الاحماض الامينية الكبريتية .

أولا : معدنة الكبريت العضوى :

سبق أن ذكرنا أن أهم صور الكبريت التى تمتصها النباتات هى الكبريتات . والكبريت يوجد فى المادة العضوية خصوصا فى الاحماض الامينية الداخلة فى تركيب البروتين فى صورة

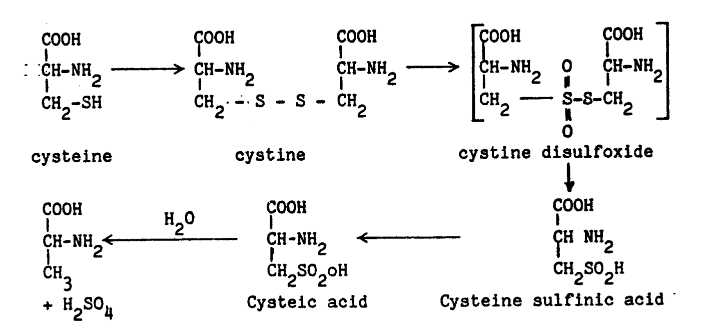
مجاميع سلفهيدريل (SH) Sulfhydryl ولابد أن تحدث معدنة لمركبات الكبريـــت العضوية حتى يمكن أن تتحول الى الصورة الملائمة للنباتات . وعملية معدنة الكبريت تشبـه عملية النشدرة فى دورة النتروجين لحد كبيرولذلك فأن البروتين المحتوى على الاحمـــاض الامينية المحتوية على كبريت لابد ان يتحلل بواسطة الميكروبات المحللة للبروتينات حيـــث يحدث تكسير للسلاسل الببتيدية الى جزئيات اصغر فأصغر حتى تتكون الاحماض الامينيـة . ثم بعد ذلك فأن الاحماض الامينية المحتوية على كبريت مثل Methionine, Cystine, cysteine يحدث لها تحلل حيث يتم خلاله نزع مجاميع السلفهيدريل وينتج H_2S وبذلك يتم معدنة الكبريت العضوى .

$$\underset{\text{cysteine}}{CH_2(SH)-CH(NH_2)-COOH} + H_2O \xrightarrow[\text{desulfhydrase}]{\text{cysteine}} CH_3-CO-COOH + NH_3 + H_2S$$

ولقد لوحظ فى بعض الدراسات انه ليس من الضرورى ان تتم عملية المعدنة بانتاج H_2S ولكن قد يحدث تحولات فى الاراضى جيدة التهوية يكون من نتيجتها تكون الكبريتات مباشرة.

Cysteine ⟶ cystine ⟶ cystine disulfoxide

alanine + sulfate ⟵ cysteine sulfinic acid ⟵



والميكروبات خلال تحليلها للمواد العضوية المحتوية على كبريت تأخذ جزء من كبريـــت المادة العضوية لبناء اجسامها والباقى تحدث له معدنة،ويتوقف حدوث المعدنة على نسبـــة الكبريت فى المادة العضوية أو بمعنى أصح على نسبة الكربون : الكبريت فى المادة العضوية C/S ratio فاذا كانت المادة العضوية ذات نسبة C/S ratio واسعة اى انهــا

فقيرة فى الكبريت ، فأن الميكروبات تأخذ مابها من كبريت لبناء اجسامها ، وان لم يكفيها فقد تلجأ للكبريتات الذائبة فى التربة ، أما اذا كانت C/S ضيقة ، أى أن المادة غنية بالكبريت فأن الميكروبات تأخذ منها مايكفيها والباقى يحدث له معدنة .

ثانيا : تمثيل مركبات الكبريت فى اجسام الميكروبات :

Inorganic sulfur immobilization

تستطيع الميكروبات استخدام عديد من صور الكبريت العضوى والمعدنى لبناء اجسامها وذلك مثل الكبريتات والثيوكبريتات والكبريتيدات والثيوسيانات والاحماض الامينية وغيرها، وتختلف الصور المستخدمة حسب الميكروب . والميكروبات تحتوى على ١ر. - ٠ر١ ٪ كبريت وبالطبع تأخذ الميكروبات احتياجاتها من هذا العنصر من التربة . واثر عملية تمثيل الكبريت فى اجسام الميكروبات على المحاصيل النامية فى الاراضى قليل بالمقارنة مع مايحدث فى دورة النتروجين، وذلك نظرا لان كمية الكبريت فى اجسام الميكروبات اقل كثيرا من نسبة النتروجين، ولكن مع ذلك فقد تحدث حالات نقص للكبريتات اللازمة لتغذية النبات فى حالة اضافة مادة عضوية كربوهيدراتية سهلة التحلل ، فقيرة أو خالية من الكبريت مثل السليلوز، وفى هذه الحالة فأن النباتات النامية فى التربة سوف تعانى من نقص الكبريت .

ثالثا : اكسدة مركبات الكبريت غير العضوية :

Oxidation of inorganic sulfur compounds

تقوم بعض الميكروبات الاوتوتروفية باكسدة الكبريت أو كبريتور الايدروجين الى كبريتات وايون الايدروجين .

وتعتبر هذه العملية مفيدة لخصوبة التربة الزراعية حيث يتحول فيها الكبريت الى صورة صالحة لتغذية النباتات .

ويمكن تقسيم البكتريا الاوتوتروفية المؤكسدة للكبريت الى :

أ) البكتريا الاوتوتروفية الكيماوية :

1. Chemolithotrophic (autotrophic) bacteria

وهى هوائية وتحصل على الطاقة من اكسدة مركبات الكبريت المعدنية، وهذه المجموعة من البكتريا لاتكون صبغات داخل خلاياها . وأهم الاجناس التابعة لهذا والنشطة فى اكسدة مركبات الكبريت غير العضوية هى :

١ - Thiobacillus :

هذا الجنس يتبع قسم البكتريا السالبة لجرام الاوتوتروفية ، والتى لها القدرة على اكسدة الكبريت ومركباته المختلفة .

وأهم صفاته المورفولوجية انه ميكروب عصوى،طوله ١ - ٣ ميكرومتر وعرضه حوالى ½ ميكرومتر، غير متجرثم - سالب لصبغة جرام - يتحرك بواسطة فلاجيلا طرفية .

ويشمل هذا الجنس تسعة أنواع منها خمسة على درجة كبيرة من الاهمية فى اكســدة مركبات الكبريت المعدنية وهى :

1. *Thiobacillus thiooxidans*
2. *Thiobacillus ferrooxidans*

ويتميز هذين النوعين بتحملهما الشديد للحموضة ، حيث يعتبر درجة الحموضة المثلــى لهما من pH ٠ر٢ الى ٥ر٣ .

3. *Thiobacillus novellus*
4. *Thiobacillus thioparus*
5. *Thiobacillus denitrificans*

وتتميز الثلاث أنواع الاخيرة بنموها على درجات الـ pH المتعادلة أو حتى المائلــة قليلا الى القلوية .

وتنمو انواع بكتريا الكبريت السابق ذكرها تحت ظروف هوائية،فيما عدا *Thiobacillus denitrificans* فهو ميكروب يستطيع النمو تحت الظروف اللاهوائية .

وتعتبر الانواع السابقة ميكروبات اوتوتروفية حتمية تحصل على الكربون من ثانى اكسيد الكربون،ولا تستطيع تحليل مركبات الكربون العضوية فيما عدا ميكروب *Thiobacillus novellus* ، الذى له القدرة على اكسدة مركبات الكربون العضوية للحصول على الطاقــة منها .

ويتميز جنس الـ Thiobacillus عموما بأنه لا يرسب حبيبات الكبريت داخل خـلاياه. وتقوم الانواع التابعة لهذا الجنس بأكسدة مركبات الكبريت غير العضوية (مثل الكبريـــت المعدنى ، الثيوكبريتات ، تتراثيونات) ، على النحو التالى :

T. thiooxidans, T. novellus

$$Na_2S_2O_3 + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2\ NaHSO_4 + Energy$$

T. thioparus

$$5\ Na_2S_2O_3 + 4O_2 + H_2O \longrightarrow 5\ Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4\ S + Energy$$

$$Na_2S_4O_6 + Na_2CO_3 + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow 2\ Na_2SO_4 + 2\ S + CO_2 + Energy$$

T. denitrificans

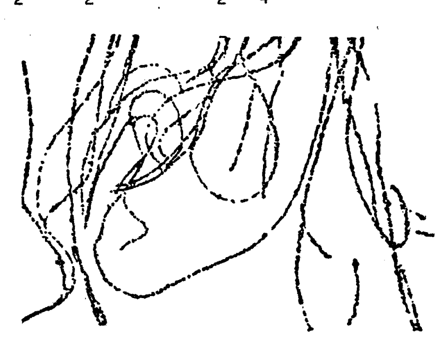
$$5\ S + 6\ KNO_3 + 2\ H_2O \longrightarrow K_2SO_4 + 4\ KHSO_4 + 3\ N_2 + Energy$$

٢) Beggiatoa :

يتبع هذا الجناس عائلة Beggiatoaceae التابعة لرتبة Cytaphagales وهو ميكروب خيطى يوجد فى شكل trichome، ويترسب الكبريت داخل الخلايا ثم يختفى بالاكسدة الى SO_4 ، ويتحرك الميكروب حركة انزلاقية gliding ويقوم هذا الميكروب باكسدة مركبات الكبريت كالاتى :

$$2\ H_2S + O \longrightarrow 2\ S + 2\ H_2O + Energy$$

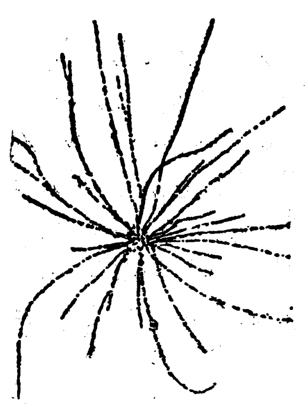
$$2\ S + 3O_2 + 2\ H_2O \longrightarrow 2\ H_2\ SO_4 + Energy$$



شكل رقم (١٠ - ٢) : خلايا Beggiatoa وتشاهد فيها حبيبات الكبريت .
(From Taha & Mahmoud, 1966).

٣) Thiothrix :

يتبع عائلة Leucotrichaceae التابعة لرتبة Cytphagales ،وهو يشبه الى حد كبير ميكروب الـ Beggiatoa من حيث شكله الخيطى وترسيبه لحبيبات الكبريت داخل خلاياه ، ولكنه يتميز عنه فى أنه غير متحرك ويأخذ شكل متفرع وتنقسم الخلايا الطرفية لخيوطه مكونة جراثيم تعرف بالـ Conidia .



شكل رقم (١٠ - ٣) : خلايا بكتريا الكبريت Thiothrix على شكل وردة بها حبيبات كبريت .
(From Taha & Mahmoud, 1966).

ب) البكتريا الممثلة للضوء :

Photolithotrophic (Photosynthetic) bacteria

وتتميز هذه المجموعة بأنها لاهوائية وتحصل على الطاقة من ضوء الشمس وتكون صبغات داخل خلاياها،ويمكن تقسيمها الى :

١) بكتريا الكبريت الارجوانية أو القرمزية :

Purple sulfur bacteria

وهى تابعة لعائلة Chromatiaceae التى تتبع رتبة Rhodosporillales وتتميز هذه المجموعة بتكوين صبغات الـ Carotinoid داخل خلاياها (وهى صبغات لونها احمر أو اصفر وتذوب فى الكلوروفورم) .

ويترسب الكبريت داخل خلاياها ، وهى عصوية أو حلزونية متحركة بفلاجيلات طرفية،وأهم الاجناس التابعة لها : Chromatium،وتقوم بالتفاعلات الاتية :

$$2\,H_2S + CO_2 \longrightarrow (CH_2O) + H_2O + 2\,S$$

$$2\,S + 3\,CO_2 + 2\,H_2O \longrightarrow 2\,H_2SO_4 + 3\,(CH_2O)$$

٢) بكتريا الكبريت الخضراء : Green sulfur bacteria

وهى تابعة لعائلة Chlorobiaceae التابعة لرتبـــــــــــــــــــــة الـ Rhodospirillales ، وهى تشبه السابقة الا انها تختلف عنها فى الآتى :

١ - غير متحركة .
٢ - لا تتكون حبيبات الكبريت داخلها .
٣ - تكون كلوروفيل بكتيرى (يذوب فى الكحول) .

وهى تقوم بنفس التفاعلات السابقة ، وأهم الاجناس التابـــــع لهـــــــــــــا Chlorobium .

جـ) الميكروبات الهتروتروفية :

Organotrophic (Heterotrophic)organisms

تستطيع بعض البكتريا والاكتينوميسيتس والفطريات القيام بأكسدة مركبات الكبريـــــت المعدنية . وهذه الميكروبات الهتروتروفية لا تحصل على الطاقة من هذه التفاعـــــلات. وتعتبر هذه التفاعلات ذات اهمية ثانوية فى التمثيل الغذائى لهذه الميكروبات بعكـــس الميكروبات الاوتوتروفية والتى تعتبر تفاعلات الاكسدة فيها المصدر الاساسى أو الوحيـــد للطاقة . وتتضمن البكتريا الهتروتروفية القادرة على الاكسدة على الانواع التابعـــــــة للاجناس التالية : Arthrobacter, Bacillus, Flavobacterium, Pseudomonas وذلك علاوة على بعض الانواع التابعة لجنس Streptomyces وبعض الفطريات التابعة لاجناس Aspergillus, Penicillium, Microsporum، ونظرا لان اعداد الميكروبات الهتروتروفية المؤكسدة لمركبـــــات الكبريت كبير ، فقد افترض بعض الباحثين ان هذه الميكروبات قد تكون اكثر اهمية فـــى اكسدة مركبات الكبريت عن الميكروبات الاوتوتروفية .

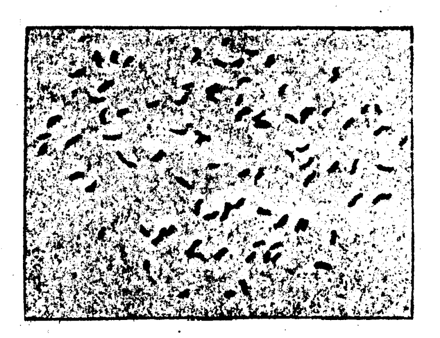
رابعا : اختزال مركبات الكبريت غير العضوية :

Reduction of inorganic sulfur compounds

تقوم بعض الميكروبات باختزال الكبريتات أو الكبريتيت أو الثيوكبريتات أو التتراثيونات تحت ظروف لا هوائية مكونة كبريتور الايدروجين، ومن اهم هذه الميكروبات :

١) *Desulfovibrio desulfuricans* :

وهو ميكروب عصوى منحنى - غير متجرثم - سالب لصبغة جرام - لا هوائى - متحـــــرك بواسطة فلاجلا طرفية Polar flagellum . ويتميز هذا الميكروب بأنه لا ينمـــو على درجة pH أقل من ٥ر٥، ولذلك يشاهد نقص فى كبريتور الايدروجين فى الاراضـــى الحامضية .



شكل رقم (١٠-٤) : بكتريا اختزال الكبريتات .
دى سلفوفبرو دى سلفيوريكنز

٢) *Desulfotomaculum* : وكان يسمى سابقا *Clostridium nigrificans*

وهو ايضا ميكروب لا هوائى حتما - يقوم باختزال الكبريتات الى كبريتور ايدروجين H_2S، وجنس Desulfotomaculum يحتوى انواعا محبة للحرارة المتوسطة وانواعا محبة للحرارة المرتفعة .

وتبين المعادلات الاتية اختزال الكبريتات بواسطة هذين الميكروبين :

$$MgSO_4 + 2\ CH_3 - CH_2\ OH \longrightarrow H_2S + Mg(OH)_2 + 2CH_3COOH$$

$$MgSO_4 + CH_3COOH \longrightarrow H_2S + Mg(OH)_2 + 2\ CO_2$$

وتقوم هذه الميكروبات باختزال الكبريتات أو الكبريتيت أو الثيوكبريتات ، كما ان بعض الفطريات و الاكتينومايسيتات وبعض البكتريا الاخرى مثل *Bacillus megatherium, Pseudomonas desulfuricans* تستطيع القيام بعمليات الاختزال .

ويجدر الذكر ان ميكروب *Pseudomonas zelinskii* له القدرة على اختزال المركبات الكبريتية غير العضوية على حساب مواد معطية للايدروجين . ولذلك فهذا الميكروب له القدرة على انتاج الطاقة من مواد عضوية ، وكذلك من المواد غير العضوية مثل الايدروجين ، ويستطيع هذا الميكروب استخدام الايدروجين او المواد

العضوية المحتوية على ايدروجين فى الاختزال،وعلى هذا يعتبر هذا الميكروب اوتوتروفى اختيارى .

والظروف التى تساعد على اختزال مركبات الكبريت تتضمن زيادة الرطوبة واضافة مواد عضوية سهلة التحلل للارض وارتفاع الحرارة،كما ان العملية تكون سريعة فى الاراضـــــى المتعادلة او المائلة للقلوية .

بكتريا الكبريت فى الاراضى المصرية :

أجريت دراسات عديدة على بكتريا الكبريت بالاراضى المصرية . ومن ابرز نتائج هـــذه الدراسات مايلى :-

١ - تتواجد البكتريا الاوتوتروفية المؤكسدة لمركبات الكبريت غير العضوية بأعداد تصل الـــى 10^4 /جم تربة . وتزداد هذه الاعداد عــن ذلك خاصة فى منطقة الريزوسفير عنـــد التسميد بأسمدة كبريتية . وعموما فان اعداد هذه الكائنات تتوقف على ظروف التربـــة ونوع وعمر النبات المنزرع .

٢ - الانواع السائدة من هذه البكتريا هى : *Thiobacillus thioparus*, *Th. denitrificans* ، حيث أنه وجد انها تمثل نسبة مرتفعة من أنـــــــواع Thiobacilli المعزولة من الاراضى المصرية ، وذلك لان هذه الانواع يناسبهـــا النمو فى وسط يقرب من التعادل ، وهى الظروف السائدة بهذه الاراضى . ولهـــذه الانواع القدرة على أكسدة الكبريت المعدنى والثيوسلفات والتتراثيونات .

٣ - تلقيح الاراضى القلوية بالكبريت وبمزارع من Thiobacilli يؤدى الى سرعة تكويـــن الكبريتات ، مع سرعة تحسين خواص التربة وارتفاع فى اعداد الميكروبات ، وزيادة جهازية عنصر الفوسفور ، والعناصر المعدنية الاخرى .

وقد تمت الاكسدة الكاملة للكبريت المضاف للتربة بمعدل ٤ طن للفدان خلال ثلاث شهور مع انخفاض فى رقم pH التربة من ١٠,٠ الى ٨,٠ خلال هذه المدة .

٤ - تكثر البكتريا المختزلة للكبريت التابعة لاجنـــــــــاس *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* فى الاراضى سيئة التهوية،وتحت هذه الظروف فان هـــذه البكتريا تستخدم الكبريت كمستقبل للايدروجين لاكسدة المادة العضوية .

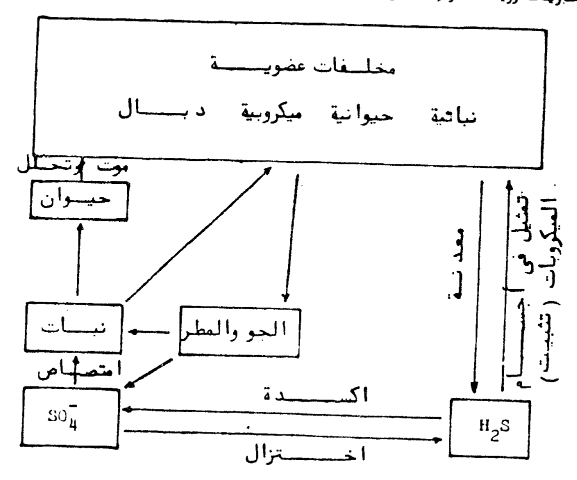
٥ - يمكن أن يؤدى نشاط البكتريا المختزلة للكبريت الى المساعدة فى تكوين اراضى قلويـــة وذلك اذا ماتوفرت الظروف التالية بالتربة :

أ - وجود كبريتات الصوديوم (وليس كبريتات الكالسيوم) .

ب - توفر مواد عضوية .

جـ - ارتفاع نسبة الرطوبة كما فى الاراضى الغدقة .

حيث أن هذه الظروف تناسب نمو ونشاط بكتريا الاختزال ، فيزداد عددها وتؤدى الى نقص الكبريتات وزيادة الكربونات غير الذائبة ونسبة الصوديوم المتبادل وبالتالى زيادة القلوية.



شكل رقم (١٠ - ٥) : دورة الكبريت . Sulfur cycle.



١١ـ دور الميكروبات في تحولات الفوسفـور في التربـــة

ROLE OF MICROORGANISMS IN PHOSPHORUS TRANSFORMATION

يوجد الفوسفور في التربة الزراعية في عديد من الصور تختلف تبعا لنوع التربة وخواصهـا الطبيعية والكيماوية ونسبة المادة العضوية فيها وعديد من العوامل الاخرى .

والحالات التي يظهر فيها اعراض نقص الفوسفور على النباتات،لا ترجع عادة الى نقـص الكمية الكلية للفوسفور في التربة،ولكن الى نقص في الفوسفور القابل للاستفادة بواسطـة النباتات .

صور الفوسفور في التربة الزراعية :

يوجد الفوسفور في التربة في صورتين :-

١ ـ الصورة المعدنية :

يوجد الفوسفور المعدني في التربة في صورة فوسفات معدنية مرتبطة بالكالسيوم أو الحديد أو الالومنيوم ... أو قد تكون مدمصة على الجزئيات الغروية ... وفي كثير من الحالات يوجد الفوسفور في صورة فلورابا تيت Fluor-apatite ($3\ Ca_3(PO_4)_2 - CaF_2$) وهذه الصورة تعتبر اقل صور الفوسفور المعدنية استفادة بواسطـة النباتات . وعند التسمد الفوسفوري للاراضي فان الفوسفور القابل للاستفادة بواسطة النباتات تحدث له تحولات تتوقف على pH التربة ... ففي الاراضي القاعدية (ذات الـ pH المرتفع) فان فوسفات الكالسيوم الاحادية المضافة تتحول بسرعة الى الحالـة غير الذائبة الثلاثية وتترسب مما يجعلها اقل صلاحية للنباتات ، ولكن بالرغم من انهـا تترسب في صورة غشاء رقيق حول الحبيبات ، فان لها سطح نوعي كبير جدا مما يعطـي الميكروبات وجذور النباتات فرصة كبيرة لتحويلها الى الصورة الذائبة مرة ثانية ... أمـا الاراضي الحامضية (ذات الـ pH المنخفض) فأن الفوسفات الذائبة تترسب في صـورة فوسفات حديد أو الالومنيوم وهذه تكون شديدة المقاومة لعملية الاذابة مما يؤدي الـى أعراض نقص الفوسفور على النباتات،ذلك ما لم تسمد باستمرار وبكميات كبيرة من الاسمـدة الفوسفاتية أو بالتسميد الورقـي .

٢ ـ الصور العضوية :

يوجد الفوسفور العضوى في التربة الزراعية ايضا ، حيث يمثل جزءا كبيرا مما بهـا من فوسفات ... فالبقايا النباتية تحتوى على (١ر - ٣ر ٪) فوسفور بينما تحتوى اجسام

الميكروبات على كميات أكبر (ميسليوم الفطريات يحتوى على ٥ر٠ - ١ ٪ فوسفور ، البكـــتريا ١ - ٣ ٪ فوسفور) ونسبة الكربون الى الفوسفور فى التربة C/P ratio حوالى ١٠٠ - ٢٠٠ : ١ ، والفوسفور يوجد فى عديد من المركبات العضوية مثل الاحماض النوويـــــة ، الفوسفو ليبيدات ، الفيتين ، الليسثين ، والمرافقات الانزيمية ، وغيرها .

ويمثل الفوسفور الموجود فى الاحماض النووية جزءا كبيرا من الفوسفور الموجود فى البقايا النباتية واجسام الميكروبات ، بينما توجد الفوسفو ليبيدات بنسبة قليلة فى البقايا النباتيـــة ونسبة أعلى فى أجسام الميكروبات،أما الفيتين فيوجد بنسبة كبيرة فى البذور - والفوسفور يوجـــد فى المركبات العضوية فى الصورة المؤكسدة PO_4^{---} (بعكس النتروجين والكبريت فهمـــا يوجدان فى الصورة المختزلة SH^- , $-NH_2$) . ويوجد الفوسفور فى التربة الزراعية المصريـــة فى صورة فوسفات كالسيوم ثلاثية $Ca_3(PO_4)_2$ أو اباتيت apatite . وتأخـــذ النباتات الفوسفور اللازم لها (القابل للاستفادة) من الفوسفات المعدنية الذائبة وخصوصا الصورة الاحادية ($H_2PO_4^-$) وهذه تختلف نسبتها بالارض من تربة لاخرى ويتوقف ذلـــك على عديد من العوامل .

وعموما اذا كان تركيز الفوسفات الذائبة بالتربة اقل من ١٠$^{-5}$ مولر ، فان النباتات النامية ستعانى نقصا فى الفوسفات .

دور الميكروبات فى تحولات الفوسفور فى التربة :

امكن تلخيص الادوار التى تلعبها الميكروبات فى تحولات الفوسفور فى التربة فى النقـــاط التالية :

١) تقوم الميكروبات بدور حيوى فى المساعدة على اذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة فـــى التربة وتحويلها الى صورة اكثر جاهزية للنباتات .

٢) للميكروبات الهيتيروتروفية Organotrophic دورا رئيسيا فى معدنة الفوسفـــــور العضوى وتحويله الى الصورة المعدنية الجاهزة للنباتات .

٣) الميكروبات تحتاج الى فوسفات لبناء أجسامها لذلك قد تلجأ للفوسفات المعدنية الذائبة فى التربة وتحويلها الى فوسفات عضوية فى اجسامها خلال عملية الـ Immobilization.

٤) يتم للمركبات الفوسفورية فى التربة تفاعلات أكسدة واختزال محدودة واهميتها فى التربـــة أقل بكثير من تلك التى تحدث للمركبات النتروجينية أو الكبريتية .

دور الميكروبات فى اذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة فى التربة :

تقوم الميكروبات المختلفة بدور كبير فى اذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة فى التربـــة الزراعية وتحويلها الى صورة قابلة للاستفادة للنباتات ... ولقد كان Saket et al 1908* أول من امكنهم ملاحظة وجود الميكروبات المذيبة للفوسفات معمليا،وهذه الميكروبات يمكنهـــا

* c.a. Waksman, 1952.

اذابة فوسفات الكالسيوم الثلاثية Tricalcium phosphate وتحويلها الى صـــورة قابلة للاستفادة (احادية) ، ولقد تمكن الباحثون من اثبات وجود أنواع واعداد عديدة من ميكروبات التربة التى لها القدرة على اذابة الفوسفات غير القابلة للاذابة . ولقد فســـروا ذلك الذوبان على أساس انتاج هذه الميكروبات للاحماض العضوية وثانى اكسيد الكربون اثناء نشاطها .

كما اوضحت دراسات العديد من العلماء أن هذه الميكروبات تفرز العديد من الاحماض العضوية من بينها حمض الفورميك والخليك والبروبيونيك والستريك واللاكتيك والسكسينيـــــك والجليكوليك ، وأن هذه الاحماض قادرة على اذابة الفوسفات المعدنية غير الذائبة ، وان الاحماض العضوية من النوع Alpha hydroxy acids اقدر من غيرها على اذابـــة الفوسفات ، وعلى هذا الاساس فانه ليس من المهم عند اذابة الفوسفات كمية الحامض المتكونة وانما نوعية هذا الحامض ، ولذلك فليس هناك ارتباط واضح بين معدل الانخفاض فى الـ pH ومعدل اذابة الفوسفات .

ولقد اوضح بعض الباحثين الاهمية الخاصة لحمض 2 Keto gluconic والـــذى يعمل على سرعة اذابة الفوسفات،وذلك يرجع الى احتمال تكوينه لمواد معقدة أو مخلبيــــــة Chelating compounds مع بعض الكاتيونات مثل الكالسيوم والحديد مما يساعـــد على اذابة الفوسفات ، وهذا الحامض تفرزه الكثير من ميكروبات التربة ، كما وجد ايضا ان تكون حمض النتريك والكبريتيك بواسطة بكتريا التأزت واكسدة الكبريت يمكنها ان تلعب دورا فـــــى اذابة الفوسفات فى التربة .

وقد لوحظ انه تحت الظروف اللاهوائية تكون الاذابة اكثر ، ويتم بطريقة غير مبا شـــــرة، ترجع الى النشاط الميكروبى تحت هذه الظروف فى تكوين H_2S ، الذى يتفاعل مع الحديـــد وبرسبه مما يؤدى الى تحرر الفوسفات من فوسفات الحديد ، كما انه تحت هذه الظـــروف اللاهوائية فان تحلل المواد العضوية يخفض Eh التربة مما يسبب اختزال الحديديك الـــى حديدوز ذائب مما يزيد من قابلية الفوسفات المتحدة للاستفادة،وعلاوة على ذلك فان عمليات اكسدة الكربوهيدرات تكون غير كاملة مما يتكون عنه نسبةعالية من الاحماض العضوية . وتأثـير الظروف اللاهوائية على زيادة قابلية الفوسفات للاستفادة،يكون اكثر وضوحـا فى الاراضـــى المنزرعة بالارز تحت ظروف الغمر، حيث لاتحتاج النباتات فى هذه الحالة الى التسميـــــد الفوسفاتى بنفس معدله تحت الظروف الهوائية،لان الحموضة المتراكمة تحت الظروف اللاهوائية تصبح عاملا مؤثرا فى زيادة قابلية الفوسفات للاستفادة .

ولقد بينت الدراسات ان ٢٠ - ٤٠ ٪ من الميكروبات المعزولة من المنطقة المحيطـــــة بالجذور ، ١٠ - ١٧ ٪ من الميكروبات المعزولة من التربة البعيدة عن الجذور قادرة علـــى اذابة الفوسفات غير الذائبة . ومن البكتريا الهامة المذيبة للفوسفات فى التربة جنــــس

Arthrobacter حيث يمثل حوالى ٥٠ - ٦٠ ٪ من الميكروبات المذيبة للفوسفات فـــى التربة ، وايضا اجناس Flavobacterium, Brevibacterium, Achromobacter, Streptomyces . كما ان بعض الانواع التابعة للاجناس التالية قد تلعب دورا فـــى اذابة الفوسفات Mycobacterium, Micrococcus, Sporosarcina, Serratia . كما ان كثيرا من الفطريات مثل Penicillium, Aspergillus, Rhizopus, Candida قادرة ايضا على اذابة الفوسفات .

وتتواجد هذه الميكروبات باعداد كبيرة فى منطقة ريزوسفير النباتات،وعزل هـــــذه الميكروبات والتعرف على انواعها واعدادها فى التربة الزراعية له اهمية كبيرة، حيث يمكن فـــى هذه الحالة التعرف على العوامل المؤثرة على اعداد وانواع هذه الميكروبات ومدى نشاطهـــا وبالتالى يمكن الاستفادة منه فى معالجة نقص الفوسفور القابل للاستفادة فى الاراضى .

وتلعب فطريات الميكورهيزا دورا فعالا فى امداد النباتات المتعايشة معها بالفوســـفات الذائب ، فهيفات هذه الفطريات لها القدرة على امتصاص الفوسفات بدرجة اكبر من الجـــذور النباتية غير المصابة بها .

تلقيح التربة بالميكروبات المذيبة للفوسفات :

Soil inoculation with phosphate solubilizing organisms

لقد درست امكانية الاستفادة بالميكروبات المذيبة للفوسفات سواء العضوية أو المعدنيـــة فى زيادة جهازية الفوسفات فى التربة ، وتعتبر الدراسات التى أجريت فى الاتحاد السوفيتى دراسات رائدة فى هذا المجال ، ولقد امكن نتيجة لهذه الدراسات تحضير لقاح بكتيرى لـــه تأثير مشجع على نمو النباتات واذابة الفوسفات غير القابلة للذوبان،ولقد اعطى هذا اللقـــاح اسم Phosphobacterin ،وهو عبارة عن سلالة بكتيرية لميكـــــروب *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* محمل على حامل من الكاؤلينايـــــت Kaolinite أو على مادة عضوية ، واصبح هذا اللقاح يطبق على نطاق واسع فـــــى مناطق كثيرة من الاتحاد السوفيتى ، ويتم ذلك بتلقيح البذور أو جذور النباتات أو التربة .

ولقد اعطيت بحوث كثيرة انطباعا بأن مثل هذا التلقيح يزيد محصول القمح زيادة مؤثرة . ولا يوجد تفسير مؤكد للتأثير المشجع الذى يحدث نتيجة تلقيح التربة بالميكروبات المذيبـــة للفوسفات وأن التفسير القائل بأن هذا التأثير يرجع فقط لان هذه الميكروبات تزيد من جهازية الفوسفور للنبات غير مؤكد للاسباب الآتية :-

١) تلقيح البذور قبل الزراعة بالـ Phosphobacterin لم يؤد الى زيادة كبـــيرة فى اعداد ميكروب *B. megatherium* var. *phosphaticum* على سطوح الجذور فى منطقة الـ Rhizosphere .

جدول رقم (١١-١) : انواع الميكروبات التى تلعب دورا فى اذابة الفوسفات بالتربة .

Table (11-1): Microorganisms and sources of phosphate which have been reported to be involved in phosphate solubilization (From Subba Rao, 1982).

Microorganisms	Phosphate sources
Bacteria: *Bacillus* sp., *B. pulvifaciens*, *B. megaterium*, *B. circulans*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. mesentericus*, *B. fluorescens*. *Pseudomonas* sp., *P. putida*, *P. liquifaciens*, *P. calcis*, *P. rathonia* *Escherichia freundii*, *E. intermedia* *Xanthomonas* spp. *Flavobacterium* spp. *Serratia* spp. *Alcaligenes* spp. *Achromobacter* spp. *Aerobacter aerogenes* *Erwinia* spp. *Nitrosomonas* spp. *Thiobacillus thiooxidans* Fungi: *Aspergillus* sp., *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. awamori* *Penicillium* sp.,*P. lilacinum*, *P. digitatum* *Fusarium* sp., *F. oxysporum* *Curvularia lunata* *Humicola* sp. *Sclerotium rolfsii* *Pythium* sp. *Acrothecium* sp. *Phoma* sp. *Mortierella* sp. *Paecilomyces* sp. *Cladosporium* sp. *Rhizoctonia* sp. *Cunninghamella* sp. *Rhodotorula* sp. *Candida* sp. *Schwanniomyces occidentalis* *Oideodendron* sp. *Pseudogymnoascus* sp. *Mycorrhiza* Actinomycetes: *Streptomyces* sp.	Mineral: Tricalcium phosphate Calcium phosphate Iron phosphate Hydroxyapatite Fluorapatite Rock phosphate Organic: Calcium phytate Calcium glycerophosphate Phytin Lecithin (Hexose monophosphatic (ester Phenyl phosphate Other organic phosphates

٢) ان منطقة الـ Rhizosphere للنباتات المنزرعة فى تربة غير ملقحة تحتوى علــــى ميكروبات قادرة على اذابة الفوسفات،وانه لو كانت التربة مناسبة للميكروبات الملقحة فأنــه لا يوجد مايمنع ان تكون مناسبة للميكروبات المذيبة للفوسفات الموجودة اصلا فى التربــة بدون حاجة الى التلقيح .

ونتيجة لهذا فلقد عزى التأثير المشجع للتلقيح على نمو النباتات جزئيا الى تأثير هــذه الميكروبات على اذابة الفوسفور فى التربة،وجزئيا الى تأثير هذه الميكروبات المثبط علــــى الفطريات المرضية فى منطقة الريزوسفير،وايضا الى ان هذه الميكروبات تفرز موادا مشجعة لنمــو النباتات اثناء نموها فى التربة .

معدنة الفوسفور العضوى : Organic phosphorus mineralization

من المعروف أن المصدر الرئيسى للفوسفور العضوى فى التربة هو البقايا النباتية المتحللة وهذه تحتوى على ٠٥ر٠ - ٥ر٠ ٪ فوسفور فى مختلف الصور العضوية . والفوسفور يوجد فــى النباتات فى تركيب الاحماض النووية والفوسفوليبيدات والفيتين والليسيثين ، والسكريات المفسفرة Phosphorylated sugars والمرافقات الانزيمية Coenzymes وفوسفـــات الادينوسين Adenosine phosphates (ATP, ADP) وغيرها . والفوسفور يوجد فـى المركبات العضوية فى الصورة المؤكسدة $PO_4^{\equiv}$ بعكس النتروجين والكبريت اللذان يوجدان داخل المركبات العضوية فى الصورة المختزلة ($-NH_2$, $-SH$) وعلى ذلك فأنه عند تحــرر الفوسفور من المركبات العضوية يتحرر فى صورة فوسفات مباشرة دون حاجة للاكسدة .

ومع أن كل من الفيتين والاحماض النووية اذا اضيفا للبيئات الغذائية المعملية فأنهـــا تتمعدن بسرعة ميكروبيولوجيا وتتحول الى صورة فوسفات جاهزة للنبات ، الا أن الوضع يختلــف كثيرا عند اضافتها للتربة حيث أن قابليتها للتحلل والتحول الى الصورة الجاهزة للنبات تقــل كثيرا ، أى تكون أبطأ من البيئات المعملية ، وهذا الاختلاف يرجع الى التفاعلات التى تتم بين هذه المركبات الفوسفورية العضوية وبين كثير من مركبات التربة ، ومثل هذه التفاعلات تؤثـــر بوضوح على قابلية هذه المركبات الفوسفورية للتحلل الميكروبى كما تؤثر على ذوبانها .

يسلك الفيتين سلوك الفوسفات غير العضوية فى تفاعلاته مع الكالسيوم والحديد والالومنيوم فى التربة،وفى التربة الحامضية فأنه يكون املاحا مع الحديد والالومنيوم ، وهذه الامـــــلاح قابليتها للذوبان قليلة بدرجة كبيرة حتى انها اقل ذوبانا من فوسفات الحديد والالومنيـــوم المعدنية فى هذه التربة . أما فى التربة القاعدية فأن الفيتين يوجد فى التربة فى صـــورة فيتات كالسيوم أو ماغنسيوم ، وهذه وان كانت قليلة الذوبان الا ان مقاومتها للتحلــــل الميكروبى اقل من فوسفات الحديد والالومنيوم .

الفيتين من الناحية الكيماوية عبارة عن Inositol hexaphosphate ،وفـــــى الظروف المناسبة يتحلل ميكروبيا بواسطة انزيم الـ Phytase، الذى تستطيع كثير مـــــن ميكروبات التربة انتاجه ، وهذا التحلل يتم طبقا للمعادلة الآتية :-

```
    OPO3H2     OPO3H2                                      OH      OH
 H  C----------C     OPO3H2                          H   C-------C      OH
 | /H          H  \  |                               | / H       H  \   |
 C  OPO3H2     H   C + 6H2O  --Phytase-->            C   OH      H    C + 6H3PO4
 O\ |          |  /  |                               | \ |       |  / |
 P  C----------C     H                               OH  C-------C    H
 O3 H          OPO3H2                                    H       OH
 H2
   Phytic acid                                             Inositol
```

والميكروبات القادرة على انتاج انزيم الـPhytase منتشرة فى الترب المختلفة الا انهـــا اقل عددا من الميكروبات المحللة لكل من الاحماض النووية والليسيثين (Alexander, 1977)، ولقد لاحظ محمود وآخرون (١٩٧٣)* واحسان حنفى (١٩٧٢)* أن اعداد الميكروبات المحللة للفيتين تصل الى ١٠ - ١٣٪ من العدد الكلى المقدر بطريقة الاطباق فى التربة المصريـــة ، وعلى العموم فقد لاحظ هؤلاء الباحثون وغيرهم أن أعداد هذه الميكروبات أكبر حول جـــذور النباتات فى منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة من الجذور كما لاحظوا أن تحلل الفيتين ابطأ من الاحماض النووية والليسيثين .

أما من ناحية الفوسفور ليبيدات Phospholipids فهى عبارة عن مركبات من الليبيدات مرتبطة مع الفوسفات، ويؤدى التحلل البيولوجى لها الى تحرر الفوسفات منها بواسطـــة انزيمات Phosphatase، وهناك قسم خاص من الفوسفوليبيدات يتضمن الليسيثيـــن Lecithin والسيفالين Cephalin ، وتوجد فيها الفوسفات فى رابطة استر مع قاعـــدة نتروجينية Nitrogen base ، لذلك فأن تحلل الليسيثين بيولوجيا يعطى ، على سبيـــل المثال ، جلسيرول ، حامضين دهنيين ، فوسفات وقاعدة نيتروجينية هى قاعدة الكولين .

ويتم التحلل كالآتى :

```
H2-COO-R
   |
 H-COO-R                       OH
  |                           /
  |      O                   / CH3
  |      ||                 //
H2-CO  - P - O - CH2-CH2-N-CH3  + 4H2O  --Lecithinase-->
         |                \
         OH                CH3
    Lecithin

-->        CH2OH                           OH
           |                             / CH3
2 R - COOH + CHOH + HO-CH2 - CH2 - N <-- CH3   + H3PO4
           |                             \ CH3
           CH2OH

2 Fatty acids + glycerol + Choline base
```

* c.a. Mahmoud *et al.* 1973-1976.

ويوجد فى التربة العديد من الميكروبات القادرة على تحليل اللسيثين منها الميكروبات التابعة لجنس الـ Bacillus ، كما ان منها الانواع التالية : *Rhodotorula sp.*: *Pseudomonas longa, Ps. trucosa, Ps. liquifaciens, Chromobacterium flavum* . وقد امكن عزل ميكروبات قادرة على تحليـــــــل اللسيثين من على جذور النباتات ، (Mahmoud et al. 1973) واتضح ان اعــداد هذه الميكروبات فى منطقة الريزوسفير اكثر من التربة البعيدة عن الجذور حيث تصل اعداد هذه الميكروبات الى ٢ر٧ مليون جم/تربة بينما تصل فى منطقة الريزوسفير الى ١٠ أضعاف هـــــذا العدد .

أما من ناحية الاحماض النووية فانها تعتبر اسرع المواد الفوسفاتية العضوية تحللا فـــى التربة،ويمكن تفسير ذلك على اساس أن الاحماض النووية تتميز باحتوائها على كل من الكربون ، والنتروجين والفوسفور فى داخل تركيبها وبنسب كافية لاحتياجات كثير من الميكروبات الناميـــة عليها،مما يشجع نمو هذه الميكروبات وتحليلها بواسطة انزيمات nucleases . ولقـــــد لوحظ أن التربة تحتوى على أعداد وانواع كثيرة من الميكروبات المحللة للاحماض النووية وكثـــير من الميكروبات قادرة على استخدام هذه المركبات كمصدر وحيد للكربون والنتروجين والفوسفور . والاحماض النووية عند تحللها ميكروبيا تتحلل أولا الى مكوناتها الاساسية وهى القواعــــــد النتروجينية مثل قواعد البيورين والبيريميدين Purines & Pyrimidines وسكريات خماسية Ribose, Deoxyribose ويتحرر مابها من فوسفور فى صورة فوسفات معدنية جاهزة للنبات،ونواتج هذا التحلل اما ان تستخدمها الميكروبات بعد ذلك أو تتمعدن فـــى التربة تبعا لظروف التحلل وظروف التربة . وفيما يلى نموذج لتحلل الاحماض النووية فى التربة يوضح تحلل احدى النيوكليتيدات Nucleotides المحتوية على قاعـــدة Pyrimidine واخرى تحتوى على مجموعة Purine .

PYRIMIDINE BASE + PENTOSE SUGAR + PHOSPHORIC ACID
(THYMINE) (DEOXYRIBOSE)

شكل رقم (١١-١) : تحلل نيوكليتيدة بها قاعدة بيريميدين .

PURINE BASE (ADENINE) + PENTOSE SUGAR (RIBOSE) + PHOSPHORIC ACID

شكل رقم (١١-٢) : تحلل نيوكليتيده بها قاعدة بيورين .

والميكروبات المحللة للاحماض النووية عديدة فى التربة ، مما يجعل تحللها سريعا جدا. ولقد اوضحت الدراسات أن أعدادها عالية جدا حول جذور النباتات فى منطقة الريزوسفير مقارنة مع التربة البعيدة عن الجذور ، كما اتضح أن الميكروبات المحللة للاحماض النووية تصل نسبتها الى ٤٠ ٪ من العدد الكلى للميكروبات فى التربة المصرية ، وانها اكثر عددا ونشاطا فى منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور .

ولقياس قدرة الميكروبات على تحليل الفوسفات العضوية فى التربة،يستخدم معدل نشاط انزيم الـPhosphatase كدليل على مقدرة الميكروبات على اذابة الفوسفات،حيث أن هذا الانزيم يفكك رابطة الاستر بين مجموعة الفوسفات وباقى المركب العضوى،مما يحرر الفوسفات الى صورة معدنية قابلة للاستفادة بواسطة النباتات ، حيث يجرى الانزيم التفاعل الآتى :

$$R-O-\overset{O}{\underset{OH}{P}}-OH + H_2O \xrightarrow{\text{Phosphatase}} R-OH + HO-\overset{O}{\underset{OH}{P}}-OH$$

كما يستخدم ايضا لقياس قدرة التربة على تحليل الفوسفور العضوى تقدير اعداد الميكروبات المفرزة لانزيم الفوسفاتيز .

تمثيل الفوسفور فى اجسام الميكروبات : Phosphorus immobilization

تحتاج ميكروبات التربة الى الفوسفور لبناء اجسامها مثل غيرها من الاحياء ، لذلك فأن توفر العنصر فى الصورة الملائمة للميكروبات ضرورى لقيام هذه الاحياء بوظائفها الحيوية . وعلى العموم فأنه تحت ظروف التربة العادية فأن كميات الفوسفور الجاهزة تكون كافية للنشاط الميكروبى الا فى أحوال خاصة ، مثل اضافة مادة عضوية غنية بالكربون سهلة التحلل وفقيرة فى الفوسفور وفى هذه الحالة يلاحظ أنه عند تحلل مثل هذه المادة ، فان الميكروبات لاتجد فيها ما يكفيها من الفوسفور لبناء اجسامها،وبذلك فانه اثناء التحلل لا يحدث معدنة لكميات الفوسفورالقليلة الموجودة فيها ، حيث تمثلها الميكروبات فى اجسامها ، واذا لم تكفيها فانها تلجأ الى الفوسفور المعدنى الذائب والميسر فى التربة لاستكمال احتياجاتها من الفوسفور ، مما يقلل الفوسفور الجاهز للنبات فى التربة وقد يتأثر المحصول من ذلك لحد كبير ، لذلك فعند اضافة مادة عضوية فقيرة فى الفوسفور الى التربة ينصح باضافة سماد فوسفاتى معدنى معها لتعويض النقص فى جهازية الفوسفور للنباتات اثناء تحلل المادة العضوية،أو أن تضاف المادة العضوية قبل الزراعة بفترة كافية حتى يتم عمليات التحلل السريعة فى المراحل الاولى لتحلل المادة العضوية وتضيق نسبة الكربون الى الفوسفور فى المادة العضوية المتحللة ، وتسمى عملية تحول الفوسفور المعدنى الموجود فى التربة الى الصورة العضوية فى أجسام الميكروبات باسم تثبيت الفوسفور فى اجسام الميكروبات Phosphorus immobilization .

ويجب أن نلاحظ أنه اثناء تحلل المادة العضوية الفقيرة فى الفوسفور،فأن نسبة الفوسفور فيها ترتفع بالتدريج مع تقدم التحلل،وذلك نتيجة للاستهلاك المستمر للمواد الكربوهيدراتية وتصاعد كميات كبيرة من CO_2 ، كما يجب أن نعرف أن النقص فى الفوسفور الجاهز خلال عملية الـ Immobilization نقص مؤقت وتشبه ذلك الذى يحدث فى دورة النتروجين ، حيث أنه مع تناقص المادة العضوية السهلة التحلل فأن عمليات التمثيل الميكروبى تقل،ومع موت اعداد كبيرة من الميكروبات التى مثلت الفوسفور فى اجسامها فأن هذا الفوسفور يعاد معدنته نتيجة تحلل اجسام هذه الميكروبات .

اما اذا اضيفت للتربة مادة عضوية غنية بالفوسفور فأن الميكروبات اثناء تحليلها لهذه المادة سوف تجد فيها مايكفيها من الفوسفور وزيادة ، وبذلك لاتحدث عملية Immobilization للفوسفور الجاهز ولكن تحدث معدنة mineralization ، وعلى ذلك فأن العامل الاساسى الذى يحكم حدوث المعدنة او حدوث Immobilization للفوسفور اثناء تحلل أى مادة عضوية،هو نسبة الفوسفور فى هذه المادة او بمعنى أصح نسبة الكربون : الفوسفور فى هذه المادة ، فاذا كانت نسبة الفوسفور فى المادة العضوية مرتفعة (أى نسبة الكربون الى الفوسفور صغيرة أو ضيقة) فأن الفوسفور الموجود فيها يكون أكثر من احتياجات الميكروبات وتحدث المعدنة ، أما اذا كان العكس أى أن المادة فقيرة فى الفوسفور

(أى نسبة الكربون الى الفوسفور كبيرة أو واسعة)،فأن عملية تمثيل الفوسفور فى اجسام الميكروبات Immobilization تكون هى السائدة ، ولقد اوضحت الدراسات أنه اذا اتسعت نسبة الكربون : الفوسفور عن ٢٠٠ - ٣٠٠ : ١ فأنه لا بد أن تحدث عملية تمثيل للفوسفور Immobilization ،ويعتبر وجود الفوسفور بنسبة ٠ر٢ ٪ فى المادة العضوية هى المستوى الحرج للفوسفور ، فاذا ارتفعت النسبة عن ذلك تحدث معدنة واذا قلت عن ذلك يحدث تمثيل للفوسفور فى أجسام الميكروبات ، ويجب أن تشير الى أن عملية بناء الفوسفور فى أجسام الميكروبات لا تتوقف فقط على نسبة الكربون الى الفوسفور فى المادة العضوية C:P ratio . ولكن لا بد من توفر النتروجين فى المادة العضوية المضافة أو فى التربة حتى تستطيع الميكروبات بناء أجسامها . لذلك يميل البعض الى اخذ نسبة الكربون : النتروجين : الفوسفور C : N : P ratio عند دراسة تحلل المواد العضوية الفوسفورية .

تفاعلات الاكسدة والاختزال لمركبات الفوسفور فى التربة : Oxidation-reduction reactions of phosphorus compounds in soil

ان الدراسات المختلفة لتغييرات النتروجين والكبريت فى التربة بينت أن تفاعلات الاكسدة والاختزال لها اهمية كبيرة فى التحولات البيولوجية لهذين العنصرين فى التربة . فالنتروجين يوجد فى المركبات العضوية فى الصورة المختزلة أى مجموعة الامين NH_2- والكبريت ايضا فى الصورة المختزلة وهى مجموعة السلفهيدريل sulfhydryl group (-SH) ، لذلك فعند تحلل المواد العضوية المحتوية على هذين العنصرين يتم معدنتهما فى صورة امونيا وكبريتور هيدروجين NH_3, H_2S على التوالى،لذلك كانت تفاعلات الاكسدة فى حالة هذين العنصرين ذات أهمية كبيرة فى التربة . أما فى حالة مركبات الفوسفور العضوية فأن تفاعلات الاكسدة ليس لها نفس الاهمية،حيث أن الفوسفور يوجد فى المركبات العضوية فى الصورة المؤكسدة مرتبطا بالمركب العضوى فى صورة H_2PO_4- وعند ما يتحرر من المادة العضوية فانه يتحرر فى صورة حامض ارثوفوسفوريك H_3PO_4 الجاهز للنبات مباشرة .

أما من ناحية تفاعلات الاختزال ، فأن اهميتها فى دورة الفوسفور ايضا محدودة مقارنة مع مايحدث فى دور النتروجين والكبريت ، فمن المعروف أنه تحت الظروف اللاهوائية فأن الميكروبات تلجأ الى النترات NO_3^- أو الكبريتات $SO_4^=$ أو الفوسفات $PO_4^≡$ لاستخدامها كمستقبلة للالكترونات Electron acceptors . وتختزل بالتالى هذه المركبات لاكسدة المواد العضوية أو المعدنية فى التربة ، ولقد ظهر من الدراسات أنه عند وجود النترات والكبريتات والفوسفات فى التربة فأن استخدام هذه المركبات بيولوجيا كمستقبلة للالكترونات يتم تبعا للترتيب التالى :

$$NO_3 > SO_4 > PO_4$$

وبذلك يتضح أن الفوسفات يقع فى موضع أخير بالنسبة للنترات والكبريتات من ناحيـــة قابليتها للاختزال .

وبالرغم مما سبق فأن اختزال الفوسفات يمكن أن يتم بدرجة محدودة تحت الظـــروف اللاهوائية وعند توفر مواد قابلة للاكسدة بنسبة كبيرة ، ويتم الاختزال على النحو التالى :

$$H_3PO_4 \xrightarrow{2\ H} H_3PO_3 \xrightarrow{2\ H} H_3PO_2 \xrightarrow{2\ H} PH_3$$

Phosphate Phosphite hypophosphite phosphine

ويتم ذلك بواسطة بعض الميكروبات الهيتروتروفية مثل *E. coli, Cl. butyricum*

ولقد لوحظ ايضا أن مركبات الفوسفور المختزلة يمكن أن تتأكسد بيولوجيا فى التربة عنـد تحسن ظروف التهوية .

التحولات البيولوجية للفوسفور فى الاراضى المصرية :

Biotransformation of phosphorus in Egyptian soils

أوضحت الدراسات التى أجراها طه ومحمود وعبد الحافظ والصاوى واحسان حنفى فـــى الفترة من ١٩٦٦ الى ١٩٧٦* الآتى :

١ - تحتوى الاراضى المصرية على أعداد كبيرة من الميكروبات المذيبة للفوسفات تصل الـــى عدة ملايين لكل جرام تربة . وتتوقف أعداد تلك الكائنات على ظروف التربة ونوع وعمـــر النبات النامى . فهى تزيد فى الاراضى الخصبة بينما توجد بقلة فى الاراضى الملحيـــة والقلوية . كما أنها توجد بكثافة أكبر فى الاراضى المـنزرعة بالبقوليات عن تلك المنزرعة بالنجيليات . ويزيد عددها بتقدم عمر النبات حتى مرحلة بدء تكوين البذور وبعد هـــا تأخذ فى الانخفاض حتى نهاية نضج المحصول . وكذلك تزداد فى العدد فـــــى الاراضى المسمدة بالاسمدة العضوية .

٢ - تحتوى منطقة الريزوسفير على نسبة مرتفعة من الميكروبات المذيبة للفوسفات ، وتمثـــل من ٣٠ - ٥٠٪ من العدد الكلى للميكروبات بـتلك المنطقة . والاشكال رقم (١١ - ٣ ، ١١ - ٤) توضح نتائج بعض التجارب التى اجريت بالاراضى المصرية .

٣ - تلعب الميكوريزا دورا ملموسا فى امداد النباتات المتعايشة معها بالفوسفور الميسر .

٤ - وجود الميكروبات المذيبة للفوسفات بكثافة عالية فى الاراضى المصرية يلعب دورا مؤثـــرا فى انتاجية هذه الاراضى . فمن المعروف أن pH هذه الاراضى يتراوح مابين ٧٫٥ الى ٩ ، وهذا يؤدى الى وجود معظم الفوسفور بالتربة فى صورة غير ميسرة للنبات ، وبذلك فأن النباتات النامية تعتمد بدرجة كبيرة على احياء التربة المجهرية لسد احتياجاتهـــا من الفوسفور الميسر .

---

* c.a. Taha *et al.* 1969 & Mahmoud *et al.* 1973-1976.

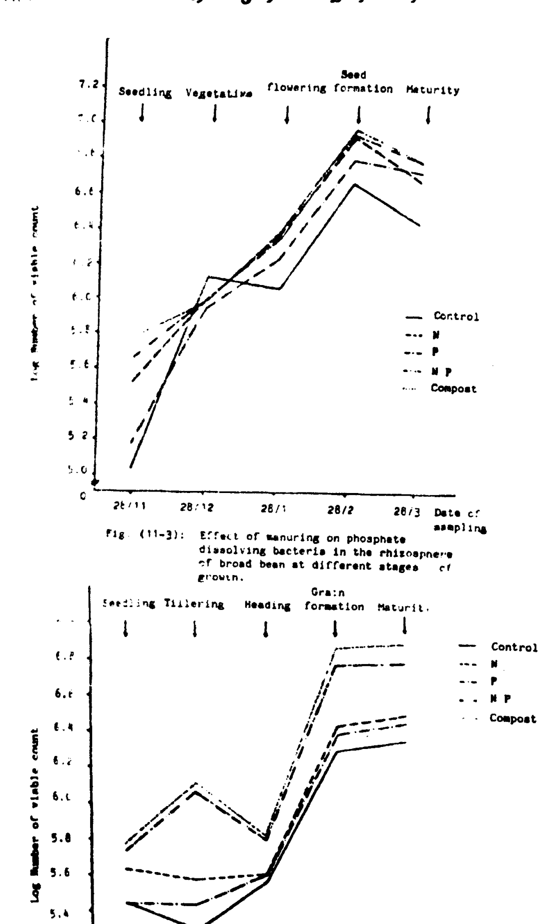


Fig. (11-3): Effect of manuring on phosphate dissolving bacteria in the rhizosphere of broad bean at different stages of growth.

Fig. (11-4): Effect of manuring on phosphate dissolvers in the rhizosphere of wheat at different stages of growth.

وقد لوحظ أن النباتات النامية فى التربة المعقمة تعانى نقصا واضحا فى قدرتهـا على امتصاص الفوسفات تحت الظروف القاعدية السائدة فى الاراضى المصرية .

٥ - وجد أن تلقيح التربة أو البذور بالسلالات المحلية ذات الكفاءة العالية فى اذابة الفوسفات يزيد من نمو النباتات وامتصاصها للفوسفات .

٦ - تتراوح نسبة الفوسفور الكلى بالاراضى المصرية مابين ٠٥ر. - ٢ر. ٪ أما الفوسفور الذائب فانه يتراوح ما بين ١٥ر. - ١ر١ ملليجرام فوسفور لكل ١٠٠ جم تربة .

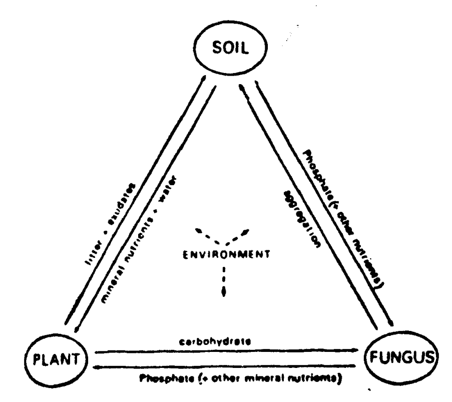
يمثل الفوسفور العضوى بالاراضى المصرية من ٢٠ الى ٨٥ ٪ من الفوسفور الكلى الموجود بها ، وتحتوى هذه الاراضى على اعداد من الميكروبات تصل الى $١٠^{٦}$ / جم لها القدرة على معدنة الفوسفور العضوى ، وهذا يؤدى الى المساهمة فى امداد النباتات النامية باحتياجاتها من الفوسفور تحت ظروف التربة القاعدية .

وقد لوحظ أن أعداد هذه الميكروبات أكبر فى منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور .

٧ - وجد أن أكثر الانواع الميكروبية انتشارا بالاراضى المصرية ذات الكفاءة العالية فى تحليل الفوسفات العضوى والمعدنى ، هى الانواع الهوائية المتجرثمة التى تتبع جنس Bacillus وكذلك الانواع التى تتبع جنس Streptomyces ، حيث يمثل كل منهما من ٢٠ - ٦٠ ٪ من مجموع الميكروبات المحللة للفوسفات . والى جانب ذلك توجد نسبة قليلة من العصويات السالبة والموجبة لجرام ، والكرويات ، والسارسينا ، وبعض خمائر التربة .

مثل هذه النتائج وان كانت تختلف عما هو موجود فى أراضى المناطق المعتدلة، حيث وجد أن الميكروبات السائدة فى تحليل الفوسفات هى Pseudomonas & Pleomorphic organisms ، الا أن لها أهميتها بالنسبة لظروف الاراضى المصرية من حيث أن الباسلس والاستربتوميسس تستطيع أن تتحمل الحرارة العالية والجفاف التى تتعرض لهـا الاراضى المصرية خلال فترة الصيف ، وبالتالى تؤدى دورا فعالا فى تيسير الفوسفات للنبات.

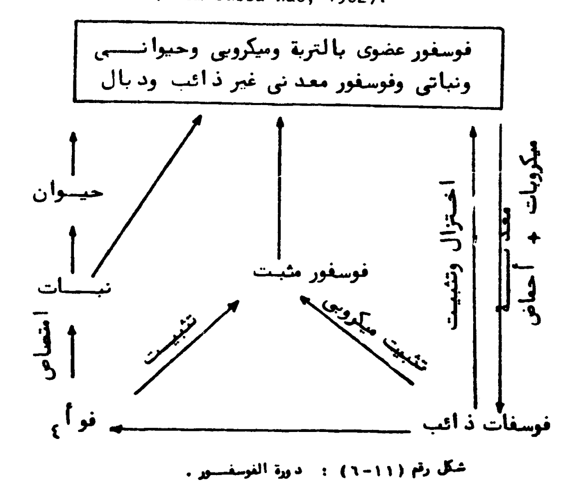
والشكل رقم (١١-٥) يبين العلاقات المتبادلة بين فطر الميكوريزا والنبات والتربة .



Components of the mycorrhizal symbiosis. Phosphate enters the plant, along with other mineral nutrients, both directly from the soil and through the fungus. It returns to the soil in exudates and litter.

شكل رقم (١١-٥) : العلاقات المتبادلة بين فطر الميكوريزا والنبات والتربة .

(From Subba Rao, 1982).



شكل رقم (١١-٦) : دورة الفوسفور .



١٢ — دورة الحديد
IRON CYCLE

تشبه التفاعلات التى تحدث للحديد بيولوجيا فى التربة والمياه تلك التى تحدث فى دورة الكبريت بحيث يوجد تفاعلات أكسدة وتفاعلات اختزال،كما يحدث عمليات معدنة لمركبات الحديد العضوية .

ومن المعروف أن الحديد يوجد فى التربة كمكون أساسى من مكونات معادنها ، وبالرغم من وجوده بكميات عالية نسبيا الا ان أغلبه يكون فى صورة غير ميسرة للنبات وكثيرا ماتظهر بعض الترب أعراض نقصه على النباتات . وتلعب التفاعلات الحيوية والكيماوية فى التربة دورا هاما فى تحولات الحديد المختلفة ، ويمكن تلخيص الادوار المختلفة التى تقوم بها الميكروبات فى تحولات الحديد فى الترب فى النقاط الآتية :

أ) يوجد فى التربة مجموعة ميكروبية هامة يطلق عليها اسم بكتريا الحديد Iron bacteria وهذه البكتريا تقوم بأكسدة مركبات الحديدوز ferrous الذائبة الى حديديك ferric ، وهذا الحديديك غالبا مايترسب بكميات كبيرة حول الخلايا فى صورة هيدروكسيد حديديك Ferric hydroxide .

ب) كثير من ميكروبات التربة الهيتروتروفية Organotrophic يمكنها أن تهاجم املاح الحديد العضوية الذائبة والموجودة فى التربة وتحولها الى صورة معدنية أقل قابلية للذوبان .

جـ) تحدث ميكروبات التربة تغيرات كبيرة فى Oxidation reduction potential فى الوسط الذى تعيش فيه . ويؤدى انخفاض جهد التأكسد والاختزال الناتج عن نشاط هذه الميكروبات الى تحول مركبات الحديديك غير الذائبة الى مركبات حديدوز ذائبة .

د) كثير من أنواع البكتريا والفطريات تنتج فى أثناء نموها وتحليلها للمواد العضوية ، نواتج حامضية التأثير تؤدى الى زيادة الحموضة فى مناطق نموها مما يساعد على ذوبان مركبات الحديد فى التربة .

هـ) تؤدى الظروف اللاهوائية التى تكون كميات كبيرة من H_2S وهذا يؤدى الى ترسيب مركبات الحديد فى صور ferrous sulfide .

و) قد يؤدى تكوين الاحماض العضوية فى التربة اثناء تحلل المواد العضوية الى اتحادها كيماويا مع ايونات الحديد لتكون Organic iron complex اكثر قابلية للذوبان .

بكتريا الحديد : Iron bacteria

تحتوى التربة على مجموعة ميكروبية معقدة قادرة على أكسدة مركبات الحديد ، وهذه المجموعة تتضمن ميكروبات ذاتية التغذية مؤكسدة للمواد الكيماوية Chemolithotrophic وميكروبات هيتروفية Organotrophic وميكروبات اختيارية Facultative Lithotrophic .

وأول من عزل الميكروبات ودرسها Winogradsky* سنة ١٨٨٨ حيث أمكنه عزلها من الينابيع المحتوية على حديد، ووجد ان هذه الميكروبات ترسب الحديد فى الغلاف المحيط بها فى صورة هيدروكسيد حديديك .

ثم اتضح بعد ذلك أن البكتريا القادرة على ترسيب الحديديك واسعة الانتشار فى التربة والمياه العادية غير المحتوية على نسبة عالية من الحديد، وحتى يمكن ملاحظاتها فى مياه الشرب العادية المعاملة بالمواد المطهرة Treated water، وهذه الميكروبات تحتاج الى وسط يحتوى على قليل من المواد العضوية الذائبة واكسوجين ذائب واملاح الحديدوز (أو أملاح المنجنوز Manganous)، وبعض أنواعها يمكنها أن ترسب الحديد من مياه تحتوى على ١ جزء من المليون حديد ذائب فقط . وقد تسبب بكتريا الحديد انسداد الانابيب الحديدية التى تستخدم لتوصيل المياه وذلك نتيجة لترسيبها كميات كبيرة من هيدروكسيد الحديديك حول كمية قليلة من الخلايا الميكروبية . ويصحب نمو بكتريا الحديد فى المياه تكون لزوجة وتغير فى اللون ويصبح طعم المياه غير مرغوب فيه . وقد تلجأ البكتريا الى حديد الانابيب الحديدية نفسها مما يؤدى الى تآكل هذه الانابيب .

وأغلب أنواع بكتريا الحديد ذات شكل خيطى وأغلبها محاط بغلاف Sheath من هيدروكسيد الحديديك أو المنجنيز . وهذه الميكروبات يصعب زراعتها وعزلها فى الاوساط المعملية . وهى ميكروبات هوائية حتما Obligate aerobes لا تنمو فى غياب الاكسجين وتفضل الاوساط المتعادلة أو المائلة للقلوية .

ومن أنواع بكتريا الحديد الاتوتروفية الحتمية : *Gallionella ferruginea*, *Ferrobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans*
وهذه الميكروبات تحصل على الطاقة اللازمة لها من عملية أكسدة الحديدوز الى حديديك . وفى البكتريا *Thiobacillus ferrooxidans* على سبيل المثال تتم عملية الاكسدة هذه على الغشاء السيتوبلازمى ، وقد امكن اثبات ذلك باضافة مادة Triton x-100 (وهى مادة متخصصة فى اذابة الغشاء السيتوبلازمى) الى الخلايا الميكروبية ، وقد وجد أن ذلك يؤدى الى ايقاف عملية الاكسدة .

أما بكتريا الحديد الاوتوتروفية الاختيارية فمنها أنواع تابعة لاجناس Liptothrix, Sphaerotilus ، وهذه الميكروبات تستطيع النمو على المواد العضوية فى حالة عدم

---

* c.a. Alexander, 1977.

وجود كميات كافية من أملاح الحديد ، وفى هذه الحالة فانها لاتكون الغلاف المغطى بهيدروكسيد الحديديك المميز باللون البنى ويمكن أن يكون الغلاف عديم اللون . أما عند توفر املاح الحديد فى الوسط فانها تكون غلافا بنيا من هيدروكسيد الحديديك يحيط بسلاسل الخلايا الطويلة،والبكتريا التابعة لجنس Sphaerotilus تكون خلايا سابحة Swarm cells عصوية متحركة بفلاجلا طرفية او قريبة من الطرف تترك الغلاف وتسبح فى الماء،حيث تنتقل الى مكان جديد تتكاثر فيه مكونة سلاسل طويلة تحيط نفسها باغلفة ، وهكذا .

أما بكتريا الحديد الهيتروتروفية فهى لابد لها من مواد عضوية لنموها ، وعملية أكسدة املاح الحديد ليس لها أهمية فى حصولها على الطاقة .

ويجب أن نشير الى أن هناك ميكروبات فى التربة قادرة على أكسدة الحديد تحت الظروف اللاهوائية على حساب اختزال النترات .

ويجب أن يلاحظ أن أكسدة الحديد يمكن أن تتم فى التربة بطريقة غير بيولوجية خصوصا فى الظروف المائلة الى القلوية،لذلك فأنه عند اختبار قدرة ميكروبات التربة على أكسدة الحديد بيولوجيا لابد من أخذ الاكسدة الكيماوية فى الاعتبار . وعلى ذلك تقدر قدرة ميكروبات التربة على أكسدة الحديدوز ، باضافة املاح الحديدوز الى وسط غذائى أو رمل معقم ثم تلقيحه بمعلق تربة ويقدر الحديديك المتكون ، وفى نفس الوقت تعمل معاملة مقارنة Control (غير ملقح) (لبيان الاكسدة الكيماوية) وتطرح قيمته من ناتج الاكسدة فى المعاملة الاولى . ولقد أمكن عن طريق مثل هذه الدراسة اثبات أن الاكسدة البيولوجية أسرع كثيرا من الاكسدة الكيماوية .

وكما سبق أن أوضحنا أن أغلب بكتريا الحديد تحصل على الطاقة اللازمة لها من عملية أكسدة الحديد ، ولكن الطاقة التى تحصل عليها من عملية الاكسدة قليلة ، وبسبب ذلك فأن الميكروبات لابد لها من أكسدة كمية كبيرة من أملاح الحديد للحصول على الطاقة اللازمة لها. ويمكن توضيح ذلك من التفاعل التالى :

$$4\ FeCO_3 + O_2 + 6\ H_2O \longrightarrow 4\ Fe(OH)_3 + 4\ CO_2 + 40\ K\ cal.$$

ومن هذا التفاعل يتبين أن الطاقة الناتجة تساوى 10 K cal لكل جرام ذرة من الحديد تتأكسد (٨ر٥٥ جرام حديد) وهذه الطاقة قليلة . وهذا يعنى قيام هذه الميكروبات بترسيب كميات كبيرة من هيدروكسيد الحديد حول كمية قليلة من الخلايا. ولقد اوضح (Starkey, 1945)* أن الميكروب يرسب كميات من الحديد حول جسمه تعادل وزنه ٥٠٠ مرة ، ويترسب أيدروكسيد الحديديك حول الميكروب طبقا للتفاعل التالى :

$$Fe_2(SO_4)_3 + 6\ H_2O \longrightarrow 2\ Fe(OH)_3 + 3\ H_2SO_4$$

---

* c.a. Alexander, 1977.

تأثير الميكروبات على أملاح الحديد العضوية :

Effect of Microorganisms on Organic iron compounds

تقوم كثير من ميكروبات التربة غير المتخصصة بدور هام فى تغييرات الحديد فى التربة حيث تحلل الشق العضوى من مركبات الحديد العضوية ، وهذا يؤدى الى ترسيب الحديد، ومثل هذه العملية لها تأثيرات كبيرة على جاهزية الحديد للنباتات،لانها تقلل من الحديد الذائب فى التربة . ويجب أن نلاحظ أن دور هذه الميكروبات فى تغيرات الحديد دور غير مباشر حيث يترسب الحديد من خلال استهلاك هذه الميكروبات للجزء العضوى المرتبط بالحديد ، فينطلق الحديد من المركب العضوى ويترسب .

ويمكن توضيح مثل هذا التفاعل باضافة جزء من التربة الى محلول يحتوى على Ferric ammonium citrate فنلاحظ أن تحلل السترات بيولوجيا يؤدى الى ترسب كميات كبيرة من الحديد فى صورة هيدروكسيد حديديك ، ومثل هذه التفاعلات تتم هوائيا ويمكن أن يحدث لاى ملح من أملاح الحديد العضوية .

والميكروبات التى تستطيع القيام بمثل هذا التفاعل واسعة الانتشار فى التربة والمياه مثل مياه الابار والبحيرات والانهار وتتبع هذه الميكروبات اجناسا عديدة منها :
Aerobacter, Bacillus, Pseudomonas, Serratia,
Corynebacterium علاوة على عديد من الفطريات والاكتينومايسيتات .

اختزال الحديد فى التربة :

من الامور المعروفة أن أغلب الحديد الموجود فى الترب جيدة الصرف ذات البناء الجيد يوجد فى صورة حديديك ، وجزء ضئيل فقط هو الذى يوجد فى صورة حديدوز ذائب. واذا اصبحت التربة مغمورة بالماء أو سادت الظروف اللاهوائية فيها فأن محتواها من الحديدوز يرتفع بسرعة . ومثل هذا التغيير يحدث نتيجة نشاط الميكروبات . ويسير الارتفاع فى الحديدوز فى خط مواز للانخفاض الذى يحدث فى Redox potential (Eh) الذى يحدث عادة نتيجة تحلل المواد العضوية تحت الظروف اللاهوائية . وقد لوحظ ان الحديدوز يصبح الايون السائد فى محلول التربة عندما يصل الجهد الى أقل من 200 m volt ، وعندما تتحسن ظروف التهوية بالتربة فأن الحديدوز تتحول الى حديديك ثانية بارتفاع الجهد عن 300 m volt فأعلى .

ولقد وضعت جملة تفسيرات لبيان كيفية اختزال الحديديك عند وجود مواد عضوية وسيادة الظروف اللاهوائية فى التربة،منها أن استهلاك الاكسوجين وانخفاض الجهد يؤدى الى اختزال الحديديك . ومنها أن نواتج التخمر تؤثر تأثيرا مباشرا على ايدروكسيد الحديديك . كما يفسر ايضا على اساس أن الحديديك من الممكن أن يعمل كمستقبل

للالكترونات فى حالة غياب الاكسوجين أثناء تنفس الخلايا بطريقة مشابهة لاختزال النترات أو انطلاق الازوت Denitrification .

والميكروبات التى تقوم باختزال الحديد فى التربة ميكروبات هيتروتروفية لاهوائية اختيارية ، ولكن التفاعل لايتم الا فى غياب الاكسوجين . ولقد وجد أن التربة تحتوى على ١٠^{٤} - ١٠^{٥} /جم من الميكروبات القادرة على اختزال الحديد . ومن الميكروبات القادرة على هذه العملية : *B. polymyxa, B. circulans, Aerobacter aerogenes,* *Escherichia freundii* .

وبالرغم من أن الظروف اللاهوائية تزيد من الحديد الذائب فى صورة حديدوز ، فأن المعروف أنه تحت الظروف اللاهوائية قد يؤدى اختزال الكبريتات Sulfate reduction under anaerobic conditions الى تكون H_2S بكميات كبيرة ، وهذا يتفاعل مع الحديدوز المتكون ، وهذا التفاعل يؤدى الى ترسيب الحديد فى صورة FeS غير الذائب مما يقلل من جهازية الحديد للنباتات فى هذه الترب .

وعملية الـ gleying فى التربة الغدقة أو المرتفعة فى مستوى الماء الارضى ترتبط بنشاط هذه الميكروبات على الحديد ؛ والاجزاء من مقطع التربة Profiles التى يحدث فيها ظاهرة الـ Gleying تكون لزجة sticky ولونها رمادى أو رمادى مزرق Grey light; greyish-blue ، واللون المميز هذا يرتبط بمستوى الماء الارضى المرتفع وفى الترب الغدقة من خلال تكوين Ferrous sulfide تحت الظروف اللاهوائية، حيث يتم فيها اختزال لكل من الحديد والكبريت فيتفاعل الحديد المختزل الذائب مع H_2S المتكون من اختزال الكبريتات ليكون FeS الذى يعطى الجزء الذى يحدث فيه العملية لونه المميز . ولقد أوضحت الدراسات أن اعداد بكتريا اختزال الحديد فى أفق الـ gleying تصل الى ١٠^{٧} / جم .

وتحت الظروف اللاهوائية فأن أنابيب الحديد تتعرض للتآكل باستمرار بحيث تصبح بلا فائدة بعد سنوات قليلة ، ومثل هذه العملية تسبب خسائر ضخمة للمشروعات مثل مشروعات المياه الجوفية وأنابيب توصيل المياه أو أنابيب البترول وغيرها ، وهذه الخسائر تزداد مع زيادة رطوبة التربة، وعملية التآكل الكيماوية و البيولوجية لاتتم فى الترب التى يزيد فيها الـ Redox potential عن 400 m volt وتصبح عالية عند جهد أقل من 100 m volt، وأنسب ظروف للتآكل هى غياب الاكسوجين و pH أعلى من ٥ر٥ ووجود نسبة عالية من الكبريتات والمادة العضوية .



١٣- اثر الميكروبات على بعض العناصر المعدنية الاخرى فى التربة

EFFECT OF MICROORGANISMS ON OTHER INORGANIC COMPOUNDS

تؤثر الميكروبات على العناصر المعدنية فى التربة بطرق عديدة ، ويمكن تطبيق التأثيرات الميكروبية التى تحدث فى دورات النتروجين والكبريت والحديد على المعادن الاخرى . وبذلك يمكن تلخيص التأثيرات المختلفة للميكروبات على العناصر المعدنية فى التربة فى النقاط التالية :-

أ) انطلاق العناصر الموجودة فى الصورة العضوية وتحويلها الى الصورة المعدنية خلال عمليات المعدنة Mineralization.

ب) تمثيل العناصر الموجودة فى الصورة المعدنية فى اجسام الميكروبات وبذلك تتحول الى الصورة العضوية خلال عملية Immobilization.

جـ) اكسدة الصور المختزلة للعناصر المعدنية .

د) اختزال الصور المؤكسدة للعناصر المعدنية .

هـ) التأثيرات غير المباشرة للنشاط البيولوجى كالتغيرات فى الحموضة أو القلوية التى تحدثها نواتج نشاط الميكروبات أو التغيير فى مستوى الاكسدة .

وعلاوة على ماسبق ذكره من العناصر التى تتعرض لتغيرات ميكروبية فى الاجزاء السابقة، فأن كثيرا من العناصر الاخرى مثل البوتاسيوم، المنجنيز ، السليكا ،السلينيوم ، الزنك ، النحاس ، الكالسيوم ، المغنسيوم وغيرها من العناصر تتعرض لتغييرات ميكروبية كثيرة .

البوتاسيوم :

البوتاسيوم كما هو معروف من العناصر الهامة فى تغذية النبات ، لذلك فأن تغيراته ذات أهمية كبيرة فى نمو النبات . ويمثل البوتاسيوم الذائب والمتبادل جزءا من البوتاسيوم الموجود فى التربة،بينما الجزء الغالب يكون مرتبطا بالجزء المعدنى للتربة فى صورة غير قابلة للتبادل ، كما يوجد جزء من البوتاسيوم مرتبطا داخل المواد العضوية فى التربة . والبوتاسيوم الموجود فى المواد العضوية لا يوجد فى صورة قوية الارتباط داخل المركبات العضوية ، لذلك فأن انفراده من المادة العضوية يتم خلال تحللها بدون حاجة لتفاعلات خاصة ، وهذا يميز عملية معدنة هذا العنصر عن عناصر اخرى مثل النتروجين والكبريت والفوسفور . علاوة على

ذلك فأن هذا العنصر لايوجد فى المركبات البيولوجية الا فى صورة واحدة أحادية التكافؤ، لذلك لايحدث تغيرات بيولوجية فى تكافئه، وبذلك فان تفاعلات الاكسدة والاختزال مثل تحول الحديد الى حديدوز أو حديديك غير موجودة .

تلعب ميكروبات التربة دورا هاما فى قابلية عنصر البوتاسيوم لاستفادة النبات، فخلال تحول المادة العضوية ينفرد العنصر فى صورة جاهزة للنبات ، ولكن يجب أن نشير الى أن أكثر من ثلثى البوتاسيوم الموجود داخل البقايا النباتية المضافة للتربة يوجد فى الصورة الذائبة، بحيث يخرج من هذه البقايا بمجرد اضافتها للتربة وتمزق الخلايا دون حاجة لتفاعلات خاصة ، أما الثلث الباقى فهو الذى يحتاج الى التحلل البيولوجى للمادة العضوية حتى ينفرد . كما أن انتاج الميكروبات للاحماض العضوية والمعدنية يزيد من ذوبان العنصر، ولقد أظهرت الدراسات أن بعض أنواع البكتريا الموجودة فى التربة قادرة على تحليل سلكات الالومنيوم فى معادن الطين aluminosilicate، ويؤدى هذا التحلل الى انفراد البوتاسيوم منها ، وتتضمن هذه الميكروبات أنواعا من Bacillus, Pseudomonas ، كما يتضمن أنواعا من اجناس الفطريات منها Aspergillus, Mucor, Penicillium وبعض أنواع الاكتينوميسيتس أيضا ، وبواسطة هذه الميكروبات ينطلق البوتاسيوم الذائب من معادن الطين مثل البيوتيت ، المسكوفيت، الميكروكلين ، والاورثوكلاز ، وغيرها .

ومن ناحية أخرى فأن تمثيل الميكروبات للبوتاسيوم يؤدى الى تحول جزء من البوتاسيوم المعدنى الذائب الى بوتاسيوم داخل تركيب خلايا الميكروبات Immobilization حيث تحتوى أجسام الميكروبات من ½ - ٣ ٪ بوتاسيوم .

المنجنيز :

لما كان المنجنيز يمكن أن يوجد فى صور عديدة مختلفة فى مستوى تأكسدها وتكافؤها ، ولما كانت هذه الصور تختلف فى قابليتها للاستفادة بواسطة النبات، فأن تغيرات المنجنيز لها أهمية خاصة فى تغذية النبات . والمنجنيز يوجد فى الارض فى الصورة الرباعية Mn^{4+} والثنائية Mn^{2+} ، والصورة الرباعية غير ذائبة بعكس الصورة الثنائية، ويتوقف سيادة أى من الصورتين فى الارض على الـpH ، ففى الظروف الحامضية عند pH أقل من ٥ر٥ تكون الصورة الثنائية هى السائدة ، أما فى الظروف القاعدية فقد لوحظ أنه عند pH أعلى من ٨ فأن الصورة الثنائية Mn^{2+} تصبح غير ثابتة وتتأكسد كيماويا الى أكسيد المنجنيك (الصورة الرباعية) ولكن عند pH أقل من ٨ فيكون دور التفاعلات الكيماوية محدودا ، ويكون الدور الاساسى للتحولات التى تحدث فى pH بين ٥ر٥ - ٨ للتفاعلات البيولوجية ، ويمكن تمثيل التفاعلات الكيماوية التى تحدث فى الوسط الحامضى أو القلوى كالآتى :

$$MnO_2 + 4H^+ + 2e^- \underset{\text{Alkaline}}{\overset{\text{Acid}}{\rightleftharpoons}} Mn^{++} + 2H_2O$$

ويمكن ملاحظة التأثير البيولوجى على تحولات المنجنيز فى التربة المتعادلة بامرار محلول يحتوى على أيون منجنوز (الصورة الثنائية) فى التربة،فيلاحظ أن أيون المنجنوز يختفى تدريجيا من الراشح،وأمكن اثبات أن هذا التحول عملية بيولوجية بالآتى :

أ - يأخذ منحنى الاكسدة شكلا لوغاريتميا متماثلا مع منحنى نمو البكتريا .
ب - يكون معدل الاكسدة سريعا عند التركيزات المنخفضة من المنجنوز عن التركيزات المرتفعة بينما لو كان التفاعل كيماوى لازداد معدله مع زيادة تركيز المواد الداخلية فى التفاعل .
جـ - اضافة المواد المثبطة للنشاط الميكروبى يوقف عملية الاكسدة .

ويمكن ملاحظة قدرة الميكروبات على أكسدة مركبات المنجنيز فى المعمل،وذلك بوضع حبيبات التربة على سطح بيئة آجار تحتوى على كربونات المنجنوز $MnCO_3$،فيلاحظ بعد نمو الميكروبات وتكوين المستعمرات أن الميكروبات المؤكسدة للمنجنيز تكون مستعمراتها محاطة براسب من أكسيد المنجنيك MnO_2،ولقد اوضحت الدراسات ان اكسدة المنجنيز تتم بواسطة سلالات من بكتريا تابعة لاجناس : Arthrobacter, Bacillus, Corynebacterium, Klebsiella, Pseudomonas, etc.

كما تستطيع بعض الفطريات التابعة لاجناس Cladosporium, Fusarium, Cephalosporium القيام بالاكسدة علاوة على بعض الاكتينومايسيتات . وليس من المؤكد أن الميكروبات التى تحدث اكسدة المنجنيز تستفيد من عملية الاكسدة فى الحصول على الطاقة .

ومن الملاحظ أن عملية الاكسدة السابقة تؤدى الى ترسيب المنجنيز ، وبالتالى تحوله الى صورة غير جاهزة لامتصاص النبات . وقد تؤدى عملية الاكسدة الى نقص واضح فى المنجنيز الذائب وتظهر اعراض نقص المنجنيز على النباتات،مما قد يؤثر تأثيرا سيئا على المحصول خصوصا فى الاراضى الغنية بالمادة العضوية ذات الـ pH بين ٦ر٥ - ٨ ، وقد يؤدى اضافة كبريتات المنجنيز الثنائى $MnSO_4$ الى معالجة مؤقتة لاعراض النقص ، ولكن فى كثير من الاحوال قد يكون العلاج الناجح هو التسميد بالرش بمحلول مخفف من كبريتات المنجنيز .

ومن ناحية اخرى فأن الميكروبات يمكن أن تلعب دورا فى اختزال مركبات المنجنيز فى الاراضى وبالتالى زيادة مستوى المنجنيز الملائم للنبات . فالميكروبات يمكنها أن تعيد تكوين الصورة الثنائية من خلال انتاجها للاحماض العضوية أو بالاختزال المباشر ، فانخفاض الـ pH نتيجة تكوين الاحماض يؤدى الى تكون الصورة الثنائية ، كما ان انخفاض الـ Eh واختفاء الاكسوجين وبالتالى سيادة الظروف الاختزالية يساعد على اختزال المنجنيز . ولقد ظهر أن اضافة مادة سهلة التحلل تزيد من مستوى المنجنيز الذائب نتيجة لتراكم الاحماض العضوية

واستهلاك الاكسوجين من الوسط كما أن غمر التربة بالماء يساعد على ذلك ايضا ، ويتم اختزال المنجنيز طبقا للمعادلة العامة الآتية :

$$RH_2 + MnO_2 \longrightarrow Mn(OH)_2 + R$$

ولقد لوحظ أن نسبة كبيرة من ميكروبات التربة قادرة على احداث مثل هذا التفاعل مثل بعض أنواع Bacillus, Clostridium, Micrococcus, Pseudomonas وغيرها . ومن الممكن أن يؤدى اضافة الكبريت للارض الى زيادة مستوى المنجنيز الجاهز للنبات من خلال أكسدة الكبريت ، وتكون حمض الكبريتيك كما أن اضافة الاسمدة الامونيومية مثل كبريتات الامونيوم قد يساعد على ذوبان المنجنيز نتيجة لتكون حمض النتريك فى عملية التأزت .

الزنك :

تلعب ميكروبات التربة دورا فى زيادة مستوى الزنك الذائب بعدة طرق :

أ) تساعد الاحماض العضوية على اذابة الزنك من سلكات الزنك .

ب) بكتريا التأزت خلال انتاجها لحمض النتريك تساعد على زيادة الزنك الجاهز للنبات .

جـ) تحلل المادة العضوية المضافة للارض مثل البقايا النباتية يساعد على معدنة مابها من زنك .

د) تؤدى اكسدة كبريتيد الزنك ZnS بواسطة بكتريا Thiobacillus الى انفراد الزنك فى صورة جاهزة ذائبة .

ومن ناحية اخرى قد يؤدى النشاط الميكروبى الى نقص فى الزنك الجاهز للنبات وأوضح الامثلة على ذلك المرض المسمى مرض الاوراق الصغيرة Little leaf فى اشجار الفاكهة والذى يعزى الى نقص الزنك ، ولقد تأكد أن هذا النقص يحدث نتيجة للنشاط الميكروبى حيث أن تعقيم التربة وزراعتها وهى معقمة يؤدى الى اختفاء اعراض النقص ، فاذا لقحت هذه التربة بجزء من تربة مصابة تعود الاعراض للظهور .

السليكون : Silicon

تلعب البكتريا المذيبة للسليكات دورا هاما فى عملية التعرية البيولوجية ، وفى التربة الزراعية فانها تحرر بعض العناصر مثل السليكون والبوتاسيوم ، لتصبح فى متناول النباتات وكائنات التربة الدقيقة . وفى هذا المجال فان بكتريا *B. circulans* تحرر هذه العناصر من معادن الطين السليكاتية مثل البيوتيت والارثوكلاز Biotite & Orthoclase وهذه المعادن تمثل من ٥ - ١٥ ٪ من معادن الطين بالتربة المصرية .

وتتراوح اعداد البكتريا المذيبة للسليكات بالتربة المصرية من عدة مئات الى $١٠^{٤}$ / جم تربة وبمناسبتها توفر المواد العضوية بالتربة . وقد أدى التلقيح ببكتريا السليكات الى زيادة

معنوية فى مقادير السليكات والبوتاسيوم الذائبة فى البيئات الصناعية المحتوية على الميوتابت والاورثوكلاز ، وان كان معدل الزيادة أكبر فى حالة البيئات المحتوية على الميوتابت عن تلك المحتوية على الاورثوكلاز ، لأن الاخير كان أكثر مقاومة للتحلل .

كما أوضحت النتائج الحقلية أن التلقيح ببكتريا السليكات أدى الى زيادة ملحوظة فى كميات البوتاسيوم والسليكات المنفردة من الصورة المعقدة ، وذلك فى جميع الاراضى خاصة الطينية والجيرية .

وتنمى البكتريا المذيبة للسليكات (*B.circulans*) على بيئة مناسبة مثل بيئة Alexandrov ، وفيها يستعمل الزجاج أو الميكا كمصدر للسليكون مع التحضين على درجة ٣٠ °م لمدة أسبوع ، والمستعمرات النامية على الاطباق تكون شفافة وتشبه قطرات الدموع .



١٤— العلاقة بين المبيدات المضافة للتربة والميكروبات

THE RELATION BETWEEN PESTICIDES AND MICROORGANISMS

منذ أن اكتشف تأثير المبيد الحشرى الـ DDT عام ١٩٣٩ وماتبعه من معرفة تأثير الـ 2,4-D كمبيد للحشائش ، فقد بدأ استخدام الكيماويات للوقاية من الآفات بهدف زيادة الغلة الزراعية . ومع اتساع استخدام هذه المركبات اكتشف ان لها بعض التأثيرات الضارة على الانسان والحيوان والنبات والكائنات الدقيقة والوسط البيئى .

وبسبب تزايد استعمال المبيدات فى الزراعة الحديثة بشكل كبير لمكافحة مختلف الآفات ، بدأ العلماء المشتغلين بميكروبيولوجيا الاراضى ينظرون بقلق الى هذه المواد السامة خوفا من آثارها الضارة على احياء التربة ، وما لهذا من انعكاس ضار على العمليات الحيوية الهامة المرتبطة بخصوبة التربة ، لذلك فلقد بدأت الدراسات تتوسع فى هذا الموضوع وتتوالى لمحاولة دراسة الموضوع من جميع نواحيه .

وأغلب المبيدات عبارة عن مركبات كيماوية عضوية تحتوى على واحدة أو أكثر من المركبات الحلقية ، أو يدخل فى تركيبها ذرة أو أكثر من الهالوجينات. واحيانا الكبريت أو الفوسفور أو النتروجين . ونظرا لان الآفات التى تستخدم المبيدات لمقاومتها تقع تحت مجموعات تقسيمية مختلفة ومتعددة ، فأن المبيدات المستعملة فى مقاومتها تختلف فى تركيبها ، وعموما فانها تسمى حسب مجموعة الكائنات التى تؤثر عليها فهناك مبيدات الحشائش Herbicides والمبيدات الحشرية Insecticides والفطرية Fungicides والنيماتودية Nematicides وهكذا .

ونظرا لان الاسم الكيماوى للمبيد طويل ومعقد ، فلقد اقترحت لها اسماء مختصرة منها على سبيل المثال :

2,4-D : 2,4-Dichloro phenoxy acetic acid
DDT : Dichloro diphenyl trichloro ethane.
Dicuran : N-(3-chloro-4-methyl phenyl)-N-dimethyl urea
Disyston : 0,0 diethyl S-2 (ethyl thio) ethyl-phosphoro dithioate.
Gesaran : 4-iso propyl amino-6(3-methyoxy propylamino) 2-methyl thio-1,3,5, triazine.
Heptachlor : 1,4,5,6,7,8,8 hepta chloro-3a,4,7,7a-tetra hydro-4,7 methano indene.

Igran : 2-tret, butyl amine-4-ethylamino-6-methyl thio-5-triazine.

Malathion : 0,0 dimethyl-S-dicarboxy ethyl phosphoro dithioate.

Niralin : 4-methyl sulfonyl-2,6-di nitro-N-N-di propylaniline.

Ordram : 5-ethyl, hexa hydro-1-M-azepine-1-carbo thionate.

Parathion : 0,0 diethyl, 0-P nitro phenyl phosphoro thionate.

Planavin : 4-(methyl sulfonyl)-2,6-dinitro-N,N-dipropyl aniline.

Simazine : 2-chloro-4,6-bis (ethylamine)-1,3,5-triazine.

Stam : 2,4-dichloro propion anilide.

Temik : 2-methyl-2 (methyl thio) prionaldehyde-O-(methyl carba moxyl) oxime.

Trifluralin : α,-α,-α-trifluoro-2,6-dinitro,N,N-dipropyl-toluidine.

ومن مبيدات الحشائش الجارى استعمالها فى مصر الكوبكس والستومب .

NH_2, F_3C, NO_2, $N(CH_2CH_3)_2$, NO_2

COBEX

C_3H_6, C_2H_3, NH, NO_2, NO_2, CH_3, CH_3

STOMP (PENOXALIN)

والشكل رقم (١٤ - ١) يوضح تركيب بعض المبيدات الشائع استعمالها .

DDT | 2,4-D | PCNB

Parathion | Trifluralin | Captan

Phorate | Bromacil | Aldicarb

Carbaryl | Dalapon | Thiram

شكل رقم (١٤ - ١) : تركيب بعض المبيدات الشائعة .

والعلاقة التي تربط ما بين المبيدات وكائنات التربة الدقيقة ذات اتجاهين :

الاتجاه الاول :

ان الميكروبات قد تتأثر تأثرا ضارا بهذه المبيدات ، وهذا يؤثر على العمليات الحيوية الجارية بالتربة .

الاتجاه الثاني :

ان الميكروبات قد تؤثر على المبيدات وتحللها مع مايترتب على هذا التحلل من معدنة للمبيدات أو فقد لسميتها detoxifixation أو تنشيط لها activation أو غيره من الآثار .

والمبيدات المستخدمة لمقاومة الآفات تتبع اقساما عديدة من المركبات الكيماوية،تختلف في طريقة تأثيرها على الآفات ومدى أثرها على الميكروبات ومدى قابليتها أو مقاومتها للتحلل البيولوجي وغير البيولوجي في التربة .

ونظرا لان أغلب المبيدات مركبات عضوية وعلى هذا فانه اذا كان المبيد صالحا كمصدر للغذاء لمجموعة من ميكروبات التربة فان تحلله واختفاء أثره السام يكون سريعا عادة .

وتصل مبيدات الآفات الى التربة بأكثر من طريق فمنها ما يضاف مباشرة على سطح التربة ، أو يحقن في طبقاتها العليا ، ومنها ما يستعمل رشا على المجموع الخضري ويصل الى التربة مما يتساقط اثناء الرش أو مع الاوراق التي تتساقط أو النباتات التي تموت بالاضافة الى ان مياه الري تتلوث بتلك المبيدات وتنقلها الى الحقول المجاورة .

وعلى العموم فأن طول مدة بقاء المبيد (Persistence) من المواضيع الهامة التي لها قيمة تطبيقية كبيرة . فقد وجد أن المبيدات تختلف كثيرا في معدل تحللها فبعضها سريع التحلل وبعضها بطيء والبعض يقع في مستوى وسط . وسرعة التحلل البيولوجي للمبيد قد تكون مرغوبة في ظروف معينة وغير مرغوبة في ظروف اخرى . فعلى سبيل المثال فانه اذا فرض اننا استخدمنا مبيدا للحشائش وكان هذا المبيد شديد المقاومة للتحلل فان وجوده في الارض لمدة طويلة بدون تحلل سوف يكون له اثارا سيئة على اى محصول حساس يزرع في الارض بعد ذلك،كما ان استخدام مبيدات مقاومة للتحلل وبقاءها في الارض لمدة طويلة بعد اضافتها يجعل من الممكن للنباتات والاعلاف الحيوانية التي تنمو في هذه الارض ان تمتص كميات من هذه المبيدات وتتراكم داخلها مما قد يكون له آثار صحية غير محمودة على من يتناول هذه النباتات وهذه النقطة قد اعطاها المشتغلون بتلوث البيئة اهمية كبيرة .

وقد جاء في احصائيات منظمة الصحة العالمية لعام ١٩٨٣ ، مايفيد بأن نصف مليون شخص على الاقل يصابون في العالم سنويا بالتسمم بالمبيدات المستخدمة في مقاومة الآفات النباتية ،يموت منهم عدة آلاف ، ومع الاسف فان اكثر من نصف حالات التسمم هذه تحدث بين سكان العالم الثالث .

ويجب أيضا أن لا يغيب عن الأذهان الآثار الخطيرة لتلوث البيئة،سواء أكانت الترع أو المصارف أو الارض أو الهواء،بهذه المبيدات المقاومة للتحلل التي تبقى آثار التلوث بها لمدة طويلة . وهناك أحوال يكون من المفيد فيها أن يكون المبيد مقاوما للتحلل لحد كبير،مثل الظروف التي يراد فيها التخلص من النمو النباتي للحشائش لمدة طويلة في المناطق التي تقام فيها مشروعات تعيق هذه النباتات العمليات الانشائية فيها،وفي احوال اخرى قد يكون من المرغوب أن يكون للمبيد مقاومة معقولة للتحلل في حالة مقاومة بعض الآفات التي يراد فيها أن يبقى المبيد مدة في الارض حيث نضمن التخلص من الآفة .

لقد اصبح من المهم للمحافظة على البيئة من التلوث دراسة الآثار الجانبية لاستخدام المبيدات ومدى ومقاومتها للتحلل قبل دخول المبيد في التطبيق العملي الزراعي،وذلك حتى يمكن تلافي الآثار السيئة،باجراء تحويرات في البناء الكيماوي للمبيد تجعله اكثر قابلية للتحلل الميكروبي،ومثل هذه التحويرات ليست صعبة الاجراء ويمكن عملها بدون تقليل الاثر السيء للمبيد على الآفة التي انتج من اجلها.ولتوضيح تأثير التغييرات التي تحدث في جزيء المبيد على قابليته للتحلل ، لوحظ مثلا أن مركبات dichlorobenzoate مقاومتها للتحلل الميكروبي في التربة أشد كثيرا من مركبات monochlorobenzoate بالرغم من الاختلاف الطفيف في التركيب الجزيئي ، كما لوحظ ايضا ان موضع المجاميع الاستبدالية على المركب الاصلي لها اثر كبير على قابلية المركب للتحلل ، فعلى سبيل المثال فقد لوحظ في مبيدات الحشائش التابعة لمجموعة Phenoxy herbicides التي فيها مجاميع استبدالية من الكلور ، ان وجود هذه المجاميع الاستبدالية في الوضع Ortho; para يجعل عمرها في التربة قصيرا،بينما ان وجدت المجموعة الاستبدالية في الموضع meta فانها تكون مقاومة للتحليل لمدة طويلة . واسباب زيادة أو نقص مقاومة مركب كيماوي للتحلل نتيجة لوجود مجموعة استبدالية معينة أو موضعها على الجزيء غير مؤكدة،ولكن بما أن المركب المقاوم يتبع اصلا مجموعة قابلة للتحلل،فانه يفترض أن المقاومة للتحلل للمركب المقاوم ترجع لعدم قابليته للنفاذية خلال خلايا الميكروبات القادرة على التحلل أو عدم قدرة الانزيمات على تحليل المركب المقاوم .

ونظرا لان مجموعة المبيدات التابعة لقسم الهيدروكربونات الكلورية Chlorinated hydrocarbons مثل الـ د.د.ت. والجامكسان ابطأ في التحلل بالتربة من المبيدات التابعة لمجموعة المركبات الفوسفورية العضوية Organo-phosphorus compounds مثل السترولين والدروسبان ، فقد قل استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الاولى وزاد استعمال المبيدات التابعة للمجموعة الثانية السهلة التحلل في الاراضي والمياه .

وعموما فقد لخص (Alexander, 1977) أسباب مقاومة بعض المبيدات للتحلل البيولوجي بالنقاط التالية :

١) غياب الانزيمات القادرة على احداث تغيرات في المجموعة الكيماوية التي يتبعها المبيد .

٢) قد تكون الانزيمات القادرة على تحليل هذه المجموعة الكيماوية موجودة ولكن وجود تحوير في تركيب جزيء المبيد يجعله غير قابل للنفاذ خلال جدر خلايا الميكروب الذي يوجد فيه الانزيم .

٣) قد تكون الميكروبات القادرة على تحليل المجموعة الكيماوية التي يتبعها المبيد موجودة فعلا ولكن وجود تحوير في جزيء المبيد يجعله غير قابل للتحلل الانزيمي، أو قد يكون المبيد المحور مثبطا للانزيمات القادرة على تحليل المجموعة الكيماوية التي يتبعها هذا المبيد .

وبصرف النظر عن اختلاف المبيدات في سرعة تحللها فأن سرعة تحلل المبيد الواحد تتأثر كثيرا بالظروف البيئية المحيطة كالآتي :-

١) الظروف اللاهوائية تؤدي الى اطالة عمر المبيد في التربة ، وقد يرجع ذلك كما في حالة hydrocarbon pesticides الى أن الانزيمات التي تعمل على هذه المركبات تحتاج الى الاكسوجين لعملها .

٢) عملية التحلل تختلف باختلاف قوام التربة ، وذلك لان عملية ادمصاص المبيدات على مواد التربة الغروية يقلل لحد كبير من قابلية هذه المبيدات للتحلل الميكروبي وذلك لسببين: فأن ادمصاص المبيد نفسه على غرويات التربة يقلل من قدرة الميكروبات على تحليله أو ازالة سميته ، كما أن الانزيمات المحللة للمبيد ان كانت انزيمات خارجية فأن ادمصاصها على غرويات التربة يقلل من فعاليتها .

٣) ان العوامل المؤثرة على النشاط البيولوجي في التربة عموما ينعكس اثرها على قدرة الميكروبات على تحليل المبيدات .

٤) التحلل اسرع في الوسط المتعادل عن الوسط الحامضي .

٥) تركيب المجموعة الميكروبية للتربة عامل مؤثر أساسي على سرعة التحلل .

٦) درجة الحرارة ودرجة الرطوبة عوامل لها تأثير كبير لما لها من آثار على النشاط البيولوجي في التربة عموما .

ورغم أن تحلل المبيدات بواسطة الميكروبات هو الغالب في الاراضي ، الا أن هذه المبيدات قد تختفي من التربة بطرق غير بيولوجية مثل الفقد بالتطاير أو بالنزول مع ماء الصرف أو بالتحلل كيماويا الذي غالبا مايكون بالتحلل المائي وفيه تنتج مواد غير سامة .

ويلاحظ ان التحلل غير البيولوجى ، لا يؤدى الى التكسير الكامل للمبيد أو معدنتـــه وذلك كما يحدث فى حالة التحلل البيولوجى ، وعلى ذلك فان نواتج التحلل غير البيولوجـى تتراكم بالتربة .

ويمكن دراسة التأثير البيولوجى على المبيدات بمقارنة التغيرات التى تحدث فى ارض معقمة بأخرى غير معقمة .

الميكروبات المحللة للمبيدات فى الارض وطرق التحلل :

تحليل المبيدات بيولوجيا يتم بواسطة مجموعة كبيرة من الميكروبات غير ذاتية التغذيـــة ، وهذه الميكروبات توجد بوفرة فى الاراضى الخصبة . فمن البكتريا نجد : Arthrobacter,
Achromobacter, Flavobacterium, Pseudomonas, Xanthomonas,
Klebsiella, Corynebacterium, Bacillus, Clostridium.
ومن الاكتنوميسيتات : Streptomyces, Micromonospora
ومن الفطريات؛ Alternaria, Aspergillus, Cladosporium, Fusarium;
Mucor, Penicillium, Trichoderma.

والانواع القادرة على التحليل تختلف حسب نوع المبيد تحت الدراسة ، فقد وجد أنـــه عندما يضاف مبيد الحشائش 2,4-D الى التربة فان جزءا من ميكروبات التربة وأغلبها بكتريـا ينشط فى اكسدة هذا المبيد . ولقد اتضح أن تحلل هذا المبيد عملية بيولوجية حيث أن هذا المبيد يبقى فى التربة المعقمة لمدة طويلة . ويختلف الوقت اللازم لتحلل المبيـــــــد واختفاء السمية من التربة الطبيعية حسب الظـروف البيئية وخواص الارض الطبيعية والكيماويـة واختلاف المجموعة الميكروبية السائدة فى التربة تبعا لذلك .

وعموما يتطلب المبيد المضاف للتربة بالمستوى الحقلى العادى من ٢ ـ ٨ اسابيع لاختفاء السمية ، وأهم العوامل التى تحدد سرعة التحلل هى درجة الحرارة ـ قوام الارض ـ الرطوبة ـ الـ pH ، وعلى العموم فان العمليات الزراعية التى تزيد النشاط البيولوجى تسرع مـن تحلل المبيد .

ولقد امكن عزل عديد من أنواع البكتريا القادرة على تحليل هذا المبيد ولوحظ انه ليس للفطريات والـActinomycetes دور هام فى تحلل هذا المبيد، أما أنواع البكتريا القادرة على تحليله فانها تتضمن أنواعا تابعة للاجناس الآتية : Arthrobacter,
Achromobacter, Corynebacterium, Mycoblasma, Flavobacterium.

وتتضمن التغيرات الميكروبية تحلل السلاسل الجانبية على الجزىء ، نزع ذرات الكلـــــور Dechlorination ، كما تتضمن كسر الانوية العطرية .

أوضحت الدراسات أن ميكروبات Pseudomonas, Nocardia قادرة على تحليل مركبات Chlorinated fatty acids، وان Flavobacterium يحلل Phenoxy herbicides، كما تبين أن الميكروبات القادرة على تحليل المبيدات التابعة لهذه المجموعة تتضمن ميكانيكية التحلل فيها كسر رابطة الاستر في المركب ، ومثل هذا التحلل يؤدى بالتالى الى اخراج الاحماض الدهنية الداخلة فى تركيب السلسلة الجانبية فى تركيب جزئ المبيد مثل انتاج حامض الخليك أو البروبيونيك وغيرها . بينما لوحظ فى دراسات اخرى ان تحلل المبيد يتم بطريقة الـ B-oxidation وهذه العملية تؤدى الى ازالة وحدات من ذرتى كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب .

ولقد اجريت دراسات اضيفت فيها عدد من مركبات Phenoxy compounds الى التربة ودرست النواتج المتكونة ، واظهرت هذه الدراسات ان عملية التحلل تتم اساسا عن طريق B-oxidation. كما اوضحت الدراسات أنه فى الاراضى المعاملة بمبيدات الحشائش امكن عزل سلالة من Arthrobacter لها قدرة على تحليل عديد من هذه المركبات بدون طور كمون Lag period، وأن هذا الميكروب قادر على كسر حلقة البنزين ولم يلاحظ اكسدة لهذه المركبات بواسطة هذا الميكروب .

وتقوم بكتريا مثل Pseudomonas, Flavobacterium, Bacillus بتحليل مبيد Parathion وهو مبيد حشرى من نوع المركبات الفوسفورية العضوية ، ويحدث تحلل هذا المبيد حتى فى الاراضى المغمورة المنزرعة ارزا وذلك بالتحلل المائى للمبيد بواسطة Pseudomonas مع انتاج P-nitrophenol او باختزال مجموعة النيترو الى نيتريت بواسطة Bacillus .

ويجب أن نلاحظ أن تأثير الميكروبات على المبيدات ليس دائما فى صالح تقليل سمية المبيد أو ازالتها، ففى بعض الاحوال قد يؤدى النشاط الميكروبى الى زيادة سميته، لهذا فأنه يمكن تقسيم اثر الميكروبات على المبيدات الى ثلاثة أقسام رئيسية هى :

١ ـ قد يكون المركب الاصلى للمبيد غير سام ولكن يتحول الى مركب سام تحت تأثير النشاط البيولوجى فى التربة وتسمى هذه العملية التنشيط .

٢ ـ قد يكون المركب الاصلى سام ويؤدى النشاط البيولوجى الى تحوله الى مركب غير سام .

٣ ـ قد تؤدى عملية التحلل البيولوجى الى تحول المبيد السام سريع التحلل الى مركب آخر سام ايضا وشديد المقاومة للتحلل البيولوجى وسبب هذه المقاومة غير معروف .

تمثيل المبيـدات : Metabolism of Pesticides

عند تحلل المبيد بواسطة الميكروبات ، فأنه يتعرض لواحد أو أكثر من أنواع التفاعـــلات الآتية :-

١) تحـلل Degradation : وفيها يتحلل المركب المعقد التركيب الى نواتج بسيطـــة التركيب . وفى هذه الحالة يحدث غالبا معدنة للمبيد Mineralization وتتكون نواتج مثل H_2O ، CO_2 بالاضافة الى CH_4 ، NH_3 ، كلور، اذا كان المبيد يحتوى علـــى نتروجين وكلور .

٢) Detoxification ازالة السمية : وذلك بازالة المجاميع السامة التى بالمبيـــد وبذلك يصبح المبيد غير سام .

٣) Activation تنشيط : وفيها يتحول المركب الاصلى للمبيد غير السام الى مركب سام بفعل الميكروبات ، والناتج هو المبيد الحقيقى المؤثر ، وذلك كما يحدث فـــى حالة تنشيط مبيد الحشائش (4-(2,4-D B الى 2,4-D وكذلك فى تنشيط مبيـد الحشرات Phorate .

٤) Additive reactions تفاعلات اضافة : وفيها يحول الميكروب المركب البسيط الى مركب أكثر تعقيدا ، باضافة مجموعات كيماوية من نواتج التمثيل الغذائى اليه ، مثل اضافة مجموعة ميثيل ، مجموعة من حمض امينى ، حمض عضوى ، احداث بلمرة للمركبـــات الحلقية كما يحدث فى حالة مبيد الحشائش المسمى Propanil حيث تتكثف الحلقـــة الى حلقتين .

Propanil ⟶ 3,4 dichloroaniline ⟶

⟶ a product of 2 benzine rings

Cl, Cl – C₆H₃ – NHC(=O)CH₂CH₃ → Cl, Cl – C₆H₃ – NH₂ → Cl, Cl – C₆H₃ – N=N – C₆H₃ – Cl, Cl

٥) Defusing : وفيها يتحول المركب غير السام ، (الذى يمكن أن يتحول بالتنشيط الى مركب سام) الى ناتج غير سام ولا يتأثر بعد ذلك بعملية التنشيط اذا ماتعرض لهـا .

٦) تغـــير مدى السمية : Changing the spectrum of toxicity

وفيها يتحول المبيد السام لمجموعة معينة من الآفات الى مبيد سام لاكثر من مجموعـــة اخرى مغايرة من الكائنات ، وذلك كما يحدث فى حالة مبيد الفطريات المسمى Penta chloro-benzyl alcohol الذى يتحول الى Chlorinated benzoic acid الذى يقتل النباتات ايضا، وتوضح المعادلة التالية هذا التفاعل :

Cl Cl
Cl—CH₂OH → Cl—COOH →
Cl Cl
Fungicide

Penta chloro-benzyl alcohol → Chlorinated benzoic acid

O(CH₂)₃COOH
4-(2,4-DB)
OH
2,4-Dichlorophenol
OCH₃
OCH₂COOH
2,4-D
CO_2 + Cl^-

A: Defusing (*Flavobacterium*)
B: Activation (soil)
C: Detoxication (*Arthrobacter*, soil)
D: Addition reaction (*Arthrobacter*)
E: Degradation (*Pseudomonas*, soil)

Initial steps in the metabolism of several phenoxyalkanoate herbicides

شكل رقم (١٤-٢) : الخطوات الاولى لتحلل مبيدات الاعشاب (فينوكسي الكانات) .

(From Alexander, 1982).

وتحلل الميكروبات المبيدات بطرق متعددة،وتمثل التفاعلات التالية الخطوات الاولى في تمثيل المبيد :-

١) اضافة مجموعة هيدروكسيل $R-CH_3 \longrightarrow R-CH_2OH$

في حالة المبيدات المحتوية على حلقات بنزين فان التفاعل السابق (تغيير مجموعة الميثيل باضافة مجموعة OH للمركب) يسبق كسر الحلقة نفسها .

٢) ازالة أو اضافة مجموعة ميثيل أو أكثر ، وهذه التفاعلات كثيرة الحدوث في المبيدات .

$$RN{<}^{CH_3}_{CH_3} \longrightarrow RNH_2$$

٣) ازالة الكلور وبذلك تزول سمية المركب ، ويحل محل الكلور ذرة ايدروجين أو مجموعة ايدروكسيل .

$$RCH_2\ Cl \longrightarrow RCH_2OH$$

٤) اكسدة الكبريت

$$\begin{matrix}R\\R\end{matrix}{>}S \longrightarrow \begin{matrix}R\\R\end{matrix}{>}SO_2$$

٥) اختزال مجموعة النيترو لتصبح نيتريت أو امين . $R-NO_2 \longrightarrow R-NH_2$

وقد تستبدل مجموعة النيترو بمجموعة ايدروكسيل .

٦) تحلل السلسلة الجانبية المتصلة بالحلقة العطرية أو كسر رابطة الاستر .

ويسبق هذا التفاعل كسر النواة العطرية ، والحمض الدهني الناتج يتحلل بطريقة B-oxidation مع انتاج حامض خليك ، وهذا التحلل يؤدي الى ازالة وحدات من ذرتين كربون من طرف السلسلة الجانبية للمركب في كل خطوة .

$$R - CH_2 - CH_2 - CH_2 - COOH \longrightarrow R-CH_2-CO-CH_2-COOH \longrightarrow$$
$$\longrightarrow R-CH_2-COOH + CH_3 - COOH$$

٧) التحلل المائي لجزئ المبيد .

$$R-\overset{O}{\overset{\|}{C}} - OR_1 + H_2O \xrightarrow{H_2O} R-\overset{O}{\overset{\|}{C}} - OH + R_1 - OH$$

٨) كسر النواة العطرية .

يتطلب كسر النواة العطرية للمبيد اضافة اكسجين الهواء الجوي ، وتنتج من الاكسدة مركبات مثل حمض الخليك والبيروفيك والسكسينك والفيوماريك والاسيتالدهيد .

وفي حالة غياب اكسجين الهواء الجوي ، أي تحت الظروف اللاهوائية ، فان المركبات العطرية تظل متراكمة بالتربة (راجع الجزء الخاص بأكسدة الهيدروكاربونات) .

والشكل رقم (١٤-٣) يوضح تحلل مبيد الحشائش 2,4-D بالتربة ميكروبيا .

تأثير المبيدات على النشاط البيولوجي :

في المناقشة المختصرة السابقة حاولنا أن نعطي فكرة مختصرة جدا عن دور الميكروبات في تحلل المبيدات . ولكن من ناحية اخرى فأن المبيدات كمواد سامة عندما تضاف للتربة

2,4-D → 2,4-dichloro-phenol → 3,5-dichloro-catechol → cis, cis-2,4-dichloro-muconic acid

→ 2-chloro-4-carboxy-methylene-but-2-enolide → chloromaleyl-acetic acid → succinic acid

Pathway of degradation of 2,4-D.

شكل رقم (١٤-٣) : خطوات تحلل الـ 2,4-D بواسطـــــــــــة

. Arthrobacter sp.

(From Alexander, 1982).

فمن المتوقع أن تكون لهـا بعـض التأثـيرات على مختلف المجموعات الميكروبية فـــــى التربـة .

ونتائج البحوث فى هذا المجال متناقضة تناقضا كبيرا : فمنها ماوجد أن له تأثـــير منشط ، ومنها ماوجد له تأثير مثبط ، والبعض كان تأثيره محدودا ، وذلك الاختلاف فـــى النتائج راجع لجملة أسباب : فالاختلاف فى النتائج قد يرجع الى اختلاف الوقت الذى قدر فيه أثر المبيد بعد اضافته للتربة ، وهذه النقطة لها أهمية خاصة فقد لوحظ من الدراسات أن بعض المبيدات قد تكون لها تأثير واضح على النشاط البيولوجى فى التربة بعد اضافتهـا مباشرة ، ويستمر هذا الاثر لمدة محدودة ثم بعد ذلك يستعيد النشاط البيولوجى مستواه الطبيعى ، بل قد يفوق مستواه الاصلى لذلك فأن الوقت الذى تأخذ فيه العينة بعـــد اضافة المبيد ، له أهمية كبيرة فى بيان أثر المبيد . كما تختلف النتائج باختلاف تركـــيز المبيد ، فأن المبيد مثله مثل أى مادة سامة قد يكون فى تركيز معين له تأثير ضار علـــى الميكروبات بينما فى تركيز آخر أقل قد لايكون له تأثير أو قد يكون تأثيره منشطا . كما تختلف النتائج حسب المجموعة الميكروبية التى تدرس أثر المبيد عليها فقد يكون المبيد مثبطا لمجموعة معينة وليس له تأثير على مجموعة أخرى ، وهكذا .

وعموما فأن كثيرا من الدراسات قد أوضحت أن استخدام مبيدات الحشائش بالمعدلات الحقلية العادية (وهى عادة معدلات قليلة) ،ليس له تأثير ملحوظ على النشاط البيولوجى فى التربة،كما ظهرت نتائج مشابهة بالنسبة لمركبات من مبيدات الحشائش مثل Chloridane,
benzene hexachloride, DDT, parathion, dialdrin, aldrin...etc.

ومن ناحية اخرى وجد أن أكثر العمليات البيولوجية تأثرا بالمبيدات هى عمليتى التأزت وعملية تثبيت النتروجين الجوى التكافلية ، وهذا طبيعى ، فبالنسبة لعملية التأزت فمن المعروف أن هذه العملية تقوم بها مجموعة محددة متخصصة من الميكروبات،وهذا يجعلها شديدة الحساسية لتغير الظروف مقارنة مع عملية اخرى مثل عملية النشدرة مثلا والتى تقوم بها انواع كثيرة من الميكروبات بعضها حساس وبعضها غير حساس ، مما يجعلها لا تتأثر كثيرا بالمبيدات . أما عملية تثبيت النتروجين التكافلية ، فمن الواضح أن اضافة احد المركبات فى منطقة جذور النباتات لمقاومة فطر معين من الفطريات التى تصيب الجذور يمكن أن يؤدى الى احباط عملية تكوين العقد البكتيرية .

وعلى العموم فأنه من الضرورى قبل ادخال مبيد جديد فى التطبيق الزراعى أن ندرس مدى آثاره ومدى اضراره على النشاط البيولوجى ومدى مقاومته للتحلل ، ومدى تأثيره على تلوث الوسط البيئى .

المقاومة الحيوية Biological control

رغم أن المقاومة الكيماوية لها أهمية كبيرة فى مقاومة الآفات ، الا أن لها ايضا آثار اخرى جانبية ضارة على الانسان والحيوان والنبات والحشرات النافعة وميكروبات التربة . بالاضافة الى ما تسببه من تلوث للوسط البيئى ، علاوة على ما قد يتكون نتيجة لاستعمالها من سلالا ت منيعة أو مقاومة من الآفات .

لكل هذه الآثار الضارة الناتجة من استعمال الكيماويات فى مقاومة الآفات ، فقد بـــدأ الاتجاه فى السنوات الاخيرة الى استعمال طرق المقاومة الحيوية كبديل للمقاومة الكيماويـــة ، وان كان من المعروف منذ الازل أن بعض الحشرات والطيور وغيرها من الكائنا ت الراقية تتغذى احيانا على بعض الحشرات والديدان الضارة بالمحاصيل .

يقصد بالمقاومة الحيوية استعمال الوسائل البيولوجية فى مقاومة الآفات حيث يستخـــدم كائن معين فى مقاومة كائن آخر . ويستخدم فى مقاومة الآفات النباتية الفيروسات ، الريكتسيا ، الميكوبلازما ، البكتريا ، الفطريات ، البروتوزوا ، التى تصيب الآفات نتيجة التغـذية عليها ، أو أمراضها ، وقد أثبتت بعض من هذه الكائنات نجاحه فى المقاومة ، وبدأ انتاجه بشكـــل تجارى فى الاسواق منذ بداية الخمسينات ، غير أن البعض الآخر مازال فى المراحـــــل التجريبية .

تسمى التحضيرات الميكروبية التى تستعمل فى مقاومة الآفات باسم المبيدات الميكروبيـــة Microbial pesticides ، يشترط فيها أن لاتكون ضارة بالانسان أو الحيوان ، لذلك يجب أن تمر بسلسلة طويلة من التجارب على حيوانات التجارب قبل التصريح باستعمالها . ومن المعوقات التى مازالت تحد من استعمال هذه التحضيرات فى المقاومة مايلى :-

١ - عدم ظهور الاثر السريع للتحضيرات البيولوجية على الآفات ، نظرا لانها تحتاج الـــى فترة حضانة داخل جسم الحشرة أو الآفة .

٢ - ليست ذات نطاق متسع من التأثير ، اذ أن تخصصها محدد لعائل أو عوائل معينـــة ، كما أنها تحتاج لدقة فى التوقيت عند استعمالها .

٣ - لا يظهر الاثر المطلوب للمبيد الحيوى ، الا اذا تغذت الآفة على الاوراق المعاملـــة بالتحضيرات الميكروبية .

من المستحضرات المستخدمة فى مقاومة الحشرات Microbial insecticides :

١ - الفيروسات :

من الفيروسات التى تستعمل بنجاح فى مقاومة الحشرات :

a. DNA viruses, e.g. Nuclear polyhedrosis viruses and granulosis viruses.

b. RNA viruses, e.g. Cytoplasmic poly hedrosis viruses.

ومن أمثلة التطبيقات الناجحة فى استخدام الفيروسات بالولايات المتحدة استخدام ٥ جالون / هكتار من معلق nuclear polyhedr, 5×10^6/ml للرش بالطائرات لمقاومة يرقات حشرة البرسيم المسماة *Colias eurytheme* .

٢ - الريكتسيا :

وجد أن ركتسيا *Rickettsia popilliae, R. grylli* ممرضة للحشرات من رتب Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera .

٣ - البكتريا :

من البكتريا التى تستعمل بنجاح فى مقاومة الحشرات *Bacillus thuringiensis*. هذه البكتريا واسعة الانتشار فى الطبيعة ، فهى توجد فى التربة والمخلفات الزراعية والحيوانية والحشرات الميتة . والميكروب عصوى متجرثم قريب الشبه بكتريا *B. cereus* ، وهو يشمل مجموعة من السلالات يبلغ عددها ١٩ سلالة ، يميز بينها سيرولوجيا بخواصها الانتيجينية (H-antigen) .

ويمتاز هذا الميكروب بأنه يكون توكسينات متعددة :

١) منها الداخلى d-endotoxin ويوجد فى شكل بللورى بداخل الاسبورانجيا Parasporal body, toxic crystalline inclusion ، شكل البللورة وحجمها يختلف باختلاف السلالة ، فقد تكون البللورة ذات شكل مغزلى وهو الغالب أو تكون مكعبة الشكل أو غير منتظمة فى بعض الاحيان .

٢) ومنها الخارجى من انواع exotoxins ,B,γ,α والتوكسين الخارجى بيتا الذى تفرزه بعض سلالات هذه البكتريا ، قابل للذوبان ، مقاوم للحرارة وشديد السمية لبعض الحشرات مثل الذبابة المنزلية ، غير انه سام أيضا للنباتات والثدييات ، لذا فان وجوده فى التحضرات الميكروبية ممنوع قانونا فى بعض البلاد .

من انجح سلالات هذه البكتريا فى مقاومة يرقات الحشرات التابعة لرتب Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera & Orthoptera السلالة H_1 المسماة *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* ، وهى

تكون بللورة سامة بالاسبورانجيا من نوع d-endotoxin ، هذا التوكسين عبارة عن جليكوبروتين ، ذو وزن جزيئي مرتفع قد يصل الى ٢٥٠ ألف ، والجزء السام به هو السلسلة عديدة الببتيدات (poly peptide).

يحدث التسمم للحشرة نتيجة التغذية بهذا التوكسين باستجابات مختلفة ، فمثلا في حالة دودة الحرير (*Bombyx mori*) يحدث لليرقة شلل عام بعد التغذية بالتوكسين مع ارتفاع في قلوية سوائل الجسم ، بينما في كثير من حرشفيات الاجنحة الاخرى يحدث شلل في بلعوم اليرقة فقط ثم امتناع عن الأكل ، وتموت الحشرة خلال ٢-٤ يوم من غزو الميكروب لجسمها .

يوجد الآن مستحضرات تجارية من هذه السلالة البكتيرية تستخدم في مقاومة الحشرات في بعض البلاد ، يحتوى الجرام منها على ما لا يقل عن ١٠^٨ جرثومة ، وهي تنتج في صورة مبتلة أو جافة ، ترش بها أو تعفر أوراق النباتات المصابة بالحشرات ، وتستعمل هذه التحضيرات بنجاح ضد يرقات دودة ورق القطن والكرنب ، فراش شمع نحل العسل ، ويرقات الناموس وحشرة الافستيا Effestia .

أنواع بكتيرية أخرى :

من أنواع البكتريا الاخرى التي تستعمل في مقاومة الحشرات :

Bacillus popillia-

تكون هذه البكتريا بللورة سامة ذات تركيب بروتيني داخل الاسبورانجيا . وهي تسبب Milky disease للخنفساء اليابانية ***Popillia japonica*** .

Bacillus sphaericus -

تستعمل هذه البكتريا في مقاومة يرقات البعوض من جنسي Culex, Anopheles . وهذه البكتريا لا تكون بللورات سامة بداخلها ، ولكن عند ما تتغذى عليها يرقات الناموس ، فان البكتريا تتحلل في بلعوم اليرقة وينفرد التوكسين الموجود بجدار خلية البكتريا فتموت اليرقات بعد ٨ - ١٠ ساعات .

٤ - الفطر :

يصيب الفطر أولا السطح الخارجي للحشرة ، وفي هذا يختلف عن العدوى الناتجة من الفيروسات والبكتريا والبروتوزوا ، ثم تنمو الجراثيم الكونيدية للفطر ، وتحت ظروف الحرارة والرطوبة المناسبة تمتد نموات الفطر الى داخل جسم الحشرة ، وبذلك يتواجد الفطر خارج وداخل جسم الحشرة .

ومن أمثلة الفطريات المستعملة بنجاح فى مقاومة الحشرات : *Bauveria bassiana* (Deuteromycetes) ، ويستعمل هذا الفطر فى مقاومة خنفساء بطاطس كلوراد و بالرش بمعدل ١-٢ كجم/هكتار بوفارين ، وهو تحضير فطرى يحتوى على ٣ × ١٠^١٠ جراثيم كونيدية / جم .

مبيدات الاعشاب الميكروبية : Microbial herbicides

ابتداء من السبعينات ازداد الاهتمام باستعمال الميكروبات الممرضة للنبات - خاصة الفطريات - لمقاومة الحشائش ، سواء تلك الموجودة فى المحاصيل الحولية أو المستديمة أو فى الاوساط المائية . ويعود هذا الاهتمام الى الادراك المتزايد لخطورة استعمال المقاومة الكيماوية وآثارها الجانبية .

ومن أمثلة الفطريات المستعملة بنجاح فى مقاومة الحشائش :

Puccinia chrondrillina ويستعمل لمقاومة حشيشة *Chrondrilla junica* .

Cercospora rodmanii ويستعمل فى مقاومة هايسنت الماء *Eichornia crassipes*, water hyacinth.

التحضرات التجارية من هذه الفطريات ، تستعمل نثرا أو رشا على النباتات ، ويحتوى المستحضر الفطرى على تركيز ١٠^٦ جرثومة على الاقل لكل ١ سم^٣ أو ١ جم من التحضير .

١٥ — ميكروبات سطح النبات

PLANT SURFACE MICROFLORA (PHYTOSPHERE)

سطح النبات — سواء الذى يقع فوق سطح التربة أو تحتها — يحتوى على أعداد كبيرة ومتنوعة من الكائنات المجهرية ، منها المتطفل ومنها غير المتطفل . ومن هذه الميكروبات ماينمو على اسطح النباتات السليمة ومنها مايوجد على النباتات غير السليمة والمتهتكة والمتحللة .

وكل جزء من أجزاء النبات (جذر ، ساق ، ورقة ، زهرة ، ثمرة) يمثل وسطا بيئيا مناسبا لمجموعة مميزة من الكائنات . ومن الطبيعى فان تغير الظروف البيئة المحيطة بالنبات أو الظروف الفسيولوجية الخاصة به،تؤدى الى حدوث تغيرات عددية ونوعية بالميكروبات المحيطة بالنبات . ومن تلك العوامل المؤثرة الرش بالمحاليل المغذية والهرمونات والمثبطات ، افرازات النبات ، التفاعل المتبادل بين سطح النبات والميكروبات ، نظام تتابع الميكروبات على السطح ، استعمال المبيدات ، الامراض النباتية .

ومن المصطلحات العلمية الخاصة بعلاقة الميكروبات بأجزاء سطح النبات المختلفة ما يلى :

١) Rhizosphere, Rhizoplane وذلك فيما يتعلق بميكروبات منطقة المجموع الجذرى .

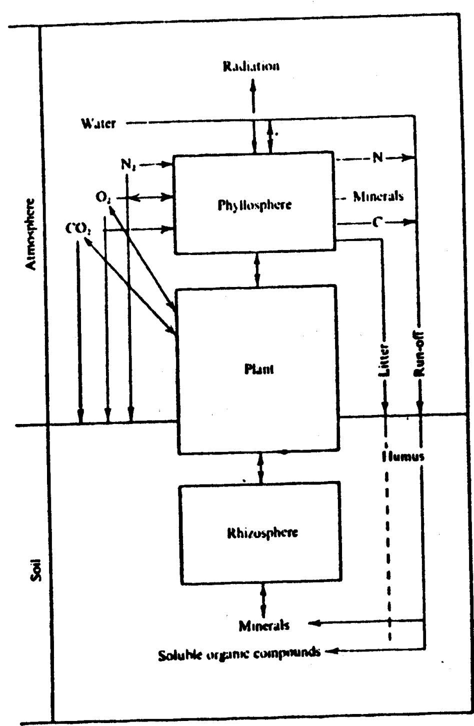
٢) Caulosphere, Cauloplane وذلك فيما يختص بميكروبات منطقة الساق .

٣) Phyllosphere, Phylloplane وذلك فيما يتعلق بميكروبات الاوراق .

٤) Gemmisphere وذلك فيما يختص بالبراعم ومايحيط بها .

ويطلق تعبير Phytosphere على كل من الريزوسفير الذى هو الوسط النباتى فى التربة Terrestial plant environment والفللوسفير والكولوسفير والجميسفير الذى هو الوسط النباتى الهوائى Aerial plant environment .

والعلاقات التى تربط بين الفللوسفير والنبات والريزوسفير والوسط المحيط كوحدة بيئية يوضحها الشكل التالى :



Phyllosphere interrelationships in the compartments of the ecosystem (from Quispel, 1974).

شكل رقم (١٠-١) : دور الفللوسفير فى النظام البيئى .

أولا : ميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بجذور النباتات
MICROBIOLOGY OF RHIZOSPHERE

من المعلوم منذ وقت طويل أن جذور النباتات تحدث تغيرات واضحة كبيرة فى النشاط الميكروبيولوجى فى التربة ، نتيجة لذلك فأن التربة المنزرعة تحتوى اعدادا كبيرة ونشاطا حيويا أكثر من التربة البور .

ولقد أظهرت الدراسات الايكولوجية أن الميكروبات تتركز باعداد ضخمة حول جذور النباتات النامية ، ولقد كان Hiltner* سنة ١٩٠٤ أول من أطلق على المنطقة المحيطة بجذور النباتات ذات النشاط البيولوجى العالى والمتميز عن المنطقة البعيدة عن الجذور الاصطلاح Rhizosphere، وعرفت بأنها المنطقة من التربة التى تكون فيها الميكروبات متأثرة بجذور النباتات ، ولقد تقدمت الدراسات الخاصة بميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بالجذور ببطئ في أوائل هذا القرن، حيث ظهرت بحوث متفرقة توضح أن البكتريا المحيطة بجذور النباتات تكون لها آثارا واضحة على نموها ، وانها تلعب دورا خاصا فى اذابة وجاهزية العناصر المعدنية للنباتات ، كما يمكن فى بعض الظروف أن تنافس النبات على العناصر المعدنية الموجودة بنسب محدودة .

وتعتبر بحوث Starkey (1929-1930)* من البحوث الاولى التى لعبت دورا فى فتح الطريق لتوضيح دور ميكروبات الـ Rhizosphere وعلاقتها بنمو النبات حيث درس اعداد وانشطة ميكروبات هذه المنطقة ، واوضح أن التأثير المشجع لجذور النباتات على الميكروبات ليس متساويا لمختلف المجاميع الميكروبية ، كما أن هذا التأثير يختلف من نبات الى آخر وحسب عمر النبات ، كما أن حالة النبات النامى ينعكس بوضوح على ميكروبات الـ Rhizosphere. كما أن البحوث التى اجراها Krasil'nikev* خلال ١٩٣٤ - ١٩٥٨ فى روسيا لها دور هام ايضا فى توضيح موضوع الـ Rhizosphere ، ثم كان للبحوث المتقدمة التى اجراها كل من Rovira, Katsnelson, Lochhead* وغيرهم دورا رئيسيا فى توضيح ميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بجذور النباتات وأهميتها والادوار التى تلعبها فى حياة النبات .

وكما سبق أن أوضحنا فأن Hiltner* قد عرف منطقة الريزوسفير بأنها المنطقة من التربة الملاصقة لجذور النباتات والمتأثرة بها، ومن الناحية العملية فأن كل الدراسات الميكروبيولوجية لهذه المنطقة بالطرق المزرعية تتضمن دراسة كل من ميكروبات سطح الجذور والتربة المحيطة بالجذور مع بعضها مرة واحدة، لذلك فأن Thom & Smith, 1939* عرفها بأنها عبارة عن " الكرة من التربة المليئة بالجذور والمحتوية على الميكروبات " .

---

* c.a. Waksman, 1952 & Alexander, 1977.

ولما كانت كثير من الدراسات أظهرت اختلافات كبيرة في اعداد وانواع الميكروبات في كل من سطح الجذور المباشر والتربة المحيطة بالجذور ، فأن بعض الباحثين كما ذكر (Alexander, 1977) يميلون الى تقسيم هذه المنطقة من الوجهة الايكولوجية الى منطقتين متميزتين هما الـ Rhizosphere (The outer rhizosphere) وهي المنطقة القريبة المحيطة بالجذور ، والـ Rhizosplane (Root surface) وهو سطح الجذر المباشر والتي تكون الميكروبات ملتصقة به باعداد ضخمة من الميكروبات .

واخيرا فأن Dommergues & Kurpa, 1978* اضافوا قسما ثالثا هو Histosphere (The inner rhizosphere) وهو منطقة القشرة بالجذر التي تسكنها الميكروبات المترممة . أما منطقة التربة البعيدة عن الجذور فتسمى Edaphosphere .

تأثير جذور النبات على ميكروبات الريزوسفير :

عموما فأن جذور النباتات تؤثر على ميكروبات الريزوسفير بطرق عديدة،فأن تنفس الجذور واخراجها كميات كبيرة من ثاني اكسيد الكربون يؤثر في الـ pH حولها كما ان امتصاص الجذور للايونات المعدنية يحدث تغييرات واضحة في المنطقة المحيطة بالجذور ، فمن المعروف أن الجذور لها خاصية الامتصاص الاختياري لبعض الايونات بمعدلات أعلى من ايونات اخرى حسب حاجة النبات،مما يحدث تغيرات في تركيب الايونات في محلول التربة حول الجذر عن التربة البعيدة عن الجذور . ولكن أهم العوامل المؤثرة على النشاط الميكروبي في هذه المنطقة هو دور الجذور في امداد الميكروبات بكثير من مصادر الطاقة والعناصر الغذائية في صورة اجزاء الجذور المتقطعة والخلايا الميتة والممزقة وافرازات الجذور المختلفة ، فالجذور الصغيرة عندما تبدأ في النمو في السلك ينفصل منها جزء كبير من خلايا المنطقة الخارجية Cortical ، كما أن سطح الجذور الصغيرة محاطة بطبقة لزجة mucigel وهذه المنطقة تكون ممتلئة بالميكروبات،كما أن الشعيرات الجذرية تنفصل مع نمو الجذر في الطول وتكون منطقة شعيرات جذرية جديدة ، وهكذا ، وهذه الاجزاء المتقطعة تعتبر موادا عضوية تستخدمها الميكروبات كغذاء لها ، أما من ناحية افرازات الجذور فكثيرة وعديدة ويختلف تركيبها من نبات الى آخر مما ينعكس على انواع الميكروبات السائدة وسوف نتكلم بالتفصيل عن افرازات الجذور فيما بعد .

كل هذه العوامل تؤثر تأثيرا منشطا على الميكروبات في المنطقة المحيطة بالجذور مما يجعل اعداد الميكروبات في هذه المنطقة أعلى بكثير من التربة البعيدة عن الجذور .

كل ماسبق يوضح باختصار تأثير جذور النباتات على الميكروبات في منطقة الريزوسفير ، وهو تأثير يحدد مع عوامل اخرى أنواع وأعداد الميكروبات بتلك المنطقة ، ومن البديهي فأن

---

* c.a. Dommergues, 1982.

الاختلاف في تركيب المجموعة الميكروبية Microflora في منطقة الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور ، كما ونوعا يرجع لهذه التأثيرات المختلفة ، ولقد أدت هذه التأثيرات المختلفة الى أن أعداد الميكروبات في منطقة الجذور أعلى بكثير عن أعداد ميكروبات التربة العادية البعيدة عن الجذور ، كما أن أنواع الميكروبات السائدة حول الجذور يختلف في نسبتها عن التربة البعيدة عن الجذور . وفي العادة يقاس تأثير الجذور على الميكروبات سواء على اعداد الميكروبات الكلية أو على أنواع محدودة من الميكروبات بتقدير ماسمى بتأثر الريزوسفير Rhizosphere effect، وذلك بتقدير نسبة R/S ratio ، وهي عبارة عن المجموعة الميكروبية في منطقة الريزوسفير (R) في الجرام الواحد من التربة الجافة مقسوما على عدد هذه الميكروبات في التربة البعيدة عن الجذور (S) في الجرام الواحد من التربة ايضا، وهذا التقدير يعطي مقياسا واضحا لتأثير الجذور على الميكروبات ، فاذا كانت نسبة R/S ratio لمجموعة ميكروبية اكبر من (واحد) كان معنى ذلك أن للجذور تأثير مشجع على هذه المجموعة الميكروبية (تأثير موجب)، وبالعكس اذا قل عن واحد كان التأثير مثبطا (تأثير سالب)، وكلما زادت قيمة نسبة R/S ratio كان معناه أن التأثير المشجع أكبر .

أما لتقدير تأثير معاملة ما على ميكروبات الريزوسفير ، فان اسحق وآخرين عام ١٩٨٤* ، استخدموا معادلة جديدة باسم R/S efficiency لتقدير مدى تأثير المعاملة المستخدمة على ميكروبات الرايزوسفير حيث :

$$\text{R/S efficiency} = \frac{R_t - R_c}{S_t - S_c}$$

R_t = عدد ميكروبات الرايزوسفير المعامل

R_c = عدد ميكروبات الرايزوسفير غير المعامل

S_t = عدد ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور المعاملة

S_c = عدد ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور غير المعاملة

وبذلك يمكن حساب التأثير الفعلي للمعاملة على ميكروبات منطقة الرايزوسفير .

ولقد أوضحت بعض الدراسات أن التأثير المشجع للريزوسفير يظهر والنبات لا يزال عمره ٣ أيام فقط بحيث وصلت نسبة R/S في هذا العمر الى ١٢ - ٢٣ : ١ وأن هذا التأثير يزداد مع نمو البادرة ، ويرجع ذلك لافرازات الجذور اساسا وليس للانسجة النباتية الممزقة ، ومع تقدم النبات في العمر فأن الانسجة الممزقة والميتة هي التي تؤثر على الميكروبات . وعندما يصل النبات الى طور النضج، فأن اعداد الميكروبات تبدأ في التناقص حتى تصل اعداد الميكروبات اخيرا الى مستواها العادي في التربة .

وتتأثر الميكروبات في منطقة الريزوسفير ايضا بنوع النبات النامي ، وكقاعدة عامة فان النباتات البقولية لها تأثير ريزوسفيري مشجع أكثر من نباتات الحشائش والحبوب ، ولقد بين

من : كتاب المؤتمر الثاني لمراكز البحوث الزراعية ، الجيزة ، مصر ، ٩-١١ ابريل ١٩٨٤ .

(Starkey, 1939)* ان اعداد البكتيريا فى منطقة الريزوسفير تصل الى ٢٥ ضعف عددها فى التربة العادية، كما تصل فى النباتات البقولية الى ٥٠ ضعفا . ولقد تبين من الدراسات ايضا أن قيمة R/S ratio تكون عادة أكثر فى التربة القليلة الخصوبة والفقيرة فى العناصر الغذائية عن التربة الخصبة والغنية بالعناصر الغذائية .

وقد أوضحت الدراسات ايضا، ان ميكروبات الريزوسفير لاتختلف كما ونوعا عن ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور فقط، ولكن ثبت ايضا ان الانواع المعزولة من الريزوسفير تكون اكثر نشاطا عن مثيلاتها التى تعيش بعيدا عن الجذر واكثر كفاءة تمثيلية . ويرجع ذلك الى أن حالة التزاحم الميكروبى حول الجذور تجعل الظروف البيئية غير مناسبة للميكروبات الضعيفة البطيئة النمو ، وبهذا يحدث انتقاء الميكروبات الاكثر كفاءة ويكون لها السيادة فى هذه المنطقة .

تأثير الريزوسفير على أنواع الميكروبات :

كما سبق ، أوضحنا أن الميكروبات المختلفة تظهر درجات مختلفة من التأثير بالجذور ، لذلك فمن المتوقع أن نجد أن بعض المجموعات يزداد عددها كثيرا فى منطقة الريزوسفير، بينما مجموعات أخرى يكون لجذور النباتات تأثيرا مثبطا عليها، فتقل اعدادها فى الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذر وهناك أنواع اخرى لاتتأثر نسبتها كثيرا .

ولقد أجريت دراسات كثيرة* لمعرفة تأثير الجذور على المجموعات الميكروبية الهامة والمرتبطة بخصوبة الاراضى وكذلك بعض المجموعات الميكروبية الواسعة الانتشار فى التربة ، ولقد اتضح من تلك الدراسات مايلى :

١) للريزوسفير تأثير مشجع على الميكروبات السالبة لصبغة جرام G-ve bacteria وخاصة أجناس Pseudomonas, Xanthomonas and Arthrobacter .

٢) لوحظ أن الميكروبات العصوية المتجرثمة الموجبة لجرام G+ve bacteria والتابعة لجنس Bacillus، يكون اعدادها اقل فى ريزوسفير النباتات من التربة البعيدة عن الجذور، الا أنه تبين ايضا أن هناك اختلاف كمى بين أنواع الميكروبات التابعة لهذا الجنس بين الريزوسفير والتربة ، فلقد وجد أن أنواع *B. circulans*, *B. brevis* and *B. polymxa* اكثر انتشارا فى الريزوسفير عن التربة البعيدة عن الجذور .

٣) تبين من نتائج الدراسات الواسعة على ميكروب الـ Azotobacter أن هناك تناقضا بينها ، فمنها مايؤكد التأثير المشجع للريزوسفير على هذا الجنس ، ومنها مايوضح التأثير المثبط للريزوسفير على هذا الجنس أو أن اعداده لاتتأثر حول جذور النباتات ، ويبدو أن هذا الجنس تختلف استجابته لتأثير الريزوسفير باختلاف النبات النامى وكذلك عمره .

---

* c.a. Alexander, 1977.

وعموما فلقد تبين أن ميكروبات *Azotobacter, Azospirillum* and *B. polymyxa* تلعب دورا هاما في تثبيت الازوت الجوى في ريزوسفير النجيليات خاصة قصب السكر والذرة والقمح .

٤) وجد أن من أكثر الميكروبات استجابة للتأثير المشجع للريزوسفر هي ميكروبات النشادرة Ammonifying bacteria ، حيث أن R/S ratio لها قد يصل الى عدة مئات ، وقد عزى ذلك الى وجود مركبات نتروجينية بنسبة عالية في هذه المنطقة تقوم هذه الميكروبات بمعدنتها ، وعلى الرغم من ذلك فقد لوحظ أن كمية المعدنة لمركبات النيتروجين العضوية في التربة المنزرعة أقل من التربة غير المنزرعة ، ولقد فسر ذلك على أساس النشاط الزائد للميكروبات في منطقة الريزوسفير وقيامها بعملية تمثل المركبات النتروجينية في اجسامها Immobilization .

٥) وجد أيضا أن أعداد بكتيريا التأزت في أغلب الاحوال لاتتأثر في منطقة الريزوسفير، على عكس ميكروبات انطلاق الازوت الذى يحتوى ريزوسفير كثير من النباتات على اعداد عالية منها،ذلك على الرغم من أن النتائج لم تؤكد زيادة في معدل عملية انطلاق الازوت في منطقة الريزوسفير .

٦) للريزوسفير تأثير مشجع ايضا على الميكروبات المحللة للسليولوز وأن أكثر الانواع وجودا في منطقة الريزوسفير هي الانواع التابعة لجنس *Cytophaga* والميكروبات العصوية القصيرة المحللة للسليولوز .

٧) من ناحية تأثير الريزوسفير على الفطريات ، أظهرت الدراسات أن الفطريات توجد في هذه المنطقة على حالة ميسليوم نشط حيث تشجع افرازات الجذور انبات الجراثيم الفطرية ونمو الميسليوم الخضرى ، بل أن جراثيم بعض الفطريات لاتنبت الا في وجود جذور نباتات معينة . ونظرا لوجود اغلب الفطريات في منطقة الريزوسفير في الحالة الخضرية النشطة،فان تقدير اعداد الفطريات بطريقة الاطباق لا يظهر ان للريزوسفير تأثير مشجع واضح على الفطريات . ولكن اذا نظرنا لاثر الجذور على الكتلة الحيوية للفطريات، فان النتائج توضح أن هناك تأثير مشجع واضح على الفطريات . وعلاوة على ذلك فأن تأثير الجذور يؤدى الى تغيير في الاجناس السائدة حول الجذور مقارنة من التربة البعيدة . وبالطبع فمن المتوقع أن يكون لجذور النباتات تأثير مشجع على فطريات الميكورهيزا Mycorrhiza الخاصة بهذه النباتات .

٨) بالنسبة للطحالب فأن البحوث تشير الى أنها عادة لاتتأثر بالريزوسفير بدرجة واضحة

٩) أما البروتوزوا فهناك بحوث تشير الى زيادة اعدادها فى الريزوسفير ، وهذا متوقع على اعتبار أن البروتوزوا تتغذى على البكتريا،لذلك فأن الزيادة فى أعداد البكتريا فى الريزوسفير يصحبة زيادة فى اعداد البروتوزوا .

تثبيت الازوت فى ريزوسفير الارز :

فى الاراضى الغدقة المنزرعة أرزا ، فأن الطحالب الخضراء المزرقة تلعب دورا اساسيا فى تثبيت الازوت الجوى . ورغم ذلك فقد أشار الكثير من البحاث الى أن بكتريا منطقة الريزوسفير تقوم ايضا بتثبيت الازوت بكميات ملموسة .

وقد عزلت الانواع التالية من الاحياء المثبتة للازوت من ريزوسفير نبات الارز :

Azotobacter, Beijerinckia.

وتصل أعداد هذه الكائنات الى ٢٠ ضعف تلك الموجودة فى المنطقة البعيدة عن الجذور . وتتأثر كمية الازوت المثبتة فى ريزوسفير نباتات الاراضى الغدقة بمجموعة من العوامل التى من أهمها : الاضاءة ، نوع التربة ، كمية أملاح الامونيوم بالتربة ... الخ .

التركيب الكيماوى لافرازات الجذور والمواد الكيماوية المؤثرة الموجودة فى الريزوسفير :

أجريت كثير من الدراسات على التركيب الكيماوى لافرازات الجذور التى يعزى اليها أغلب التأثير المشجع للميكروبات ، ولقد أوضحت هذه الدراسات أن السكريات والاحماض الامينية تكون الجزء الاكبر من هذه الافرازات، هذا الى وجود مركبات اخرى بكميات قليلة مثل :

Vitamins, enzymes, glucosides, nucleotides, flavones, auxins, indoles ..... etc.

من الاحماض الامينية والمركبات الشبيهة التى تفرزها الجذور :

Glutamic acid, asparagin, asparatic acid, alanine, leucine, arginine, glycine, p-aminobutryric acid, B-alanine, isoserine, phenyl alanine, cystine, cysteine, proline, methionine, lysine, tryptophan, tyrosine, threonine.

وعموما فأن المركبات السائدة من هذه المواد تختلف باختلاف نوع النبات وحالته ، وان هذه الاختلافات تعتبر عامل مؤثر على الفلورا فى منطقة الريزوسفير مما يؤدى الى اختلافات واضحة فى تركيب المجموعة الميكروبية كما ونوعا بين النباتات المختلفة .

كما أظهرت الدراسات ايضا وجود عديد من السكريات فى افرازات الجذور ، منها : Glucose, fructose, sucrose, maltose, arabinose, rafinose, rhamnose ، وهذه السكريات تلعب دورا هاما فى تشجيع الميكروبات فى الريزوسفير .

ولقد تبين من الدراسات ايضا وجود حوالى ١٠ أحماض عضوية فى افرازات الجذور وكثير من عوامل النمو مثل Choline, pyridoxine, thiamine, biotin, niacin, pantothenate ، كما لوحظ وجود بعض الاكسينات auxins والانزيمات والمركبات الفوسفورية العضوية وغيرها ، كما ظهر من الدراسات أن الجذور تفرز علاوة على ماسبق مواد لها تأثيرات مثبطة (مثل phenolic compounds) لبعض الميكروبات والاحياء الاخرى فى التربة .

ومن المواد التى وجدت فى منطقة ريزوسفير نباتات نامية تحت شروط التعقيم ما يلى :

جدول رقم (١٥-١) : المواد التى تفرزها النباتات النامية تحت ظروف التعقيم .

المجموعة	الانواع المفرزة
الاحماض الامينية	تقريبا كل الاحماض الامينية التى توجد طبيعيا .
الاحماض العضوية	الخليك - البيوتريك - الستريك - الفيوماريك - الجلايكوليك - اللاكتيك - الماليك - الاكساليك - البروبيونيك - السكسنيك - الفاليريك - طرطريك .
الكربوهيدرات	الارابينوز - الديزوكس رايبوز - الفراكتوز - الجلاكتوز - الجلوكوز - مالتوز - مانوز - رافينوز - ريبوز - سكروز - زيلول علاوة على بعض عديدات التسكر .
الاحماض النووية ومشتقاتها	قواعد الادينين - الجوانين - السيتوزين - اليوريدين .
عوامل النمو	بارا امينو بنزوات - بيوتين - كولين - اينوزيتول - حامض نيكوتينيك - بنتوثينات - بيرودوكسين - ثيامين .
انزيمات	اميليز - انفرتيز - فوسفاتيز - بروتياز .
مركبات اخرى	اكسينات - جلوتامين - جليكوزيدات - حامض هيدروسيانيك - بارا هيدروكسى بنزوات - ببتيدات - صابونين - اسكوبولتين .

تأثير ميكروبات الريزوسفير على النبات :
Effect of Rhizosphere Microflora on Plant

أن منطقة الريزوسفير كما هو واضح هى المنطقة من التربة الملاصقة لجذور النباتات مباشرة ومعنى هذا انها فى تلاصق مباشر مع الجذور، مما يجعل للتغيرات التى تحدث فى هذه المنطقة انعكاسا سريعا ومباشرا على نمو النبات ، ومن الناحية الاخرى فأن وجود ميكروبات هذه المنطقة قريبة من الجذور يجعلها تتأثر بهذه الجذور ، لذلك فالعلاقات بين ميكروبات الريزوسفير وجذور النباتات علاقات عديدة منها العلاقات المفيدة ومنها الضارة ، كما أن لهذه الميكروبات علاقة كبيرة بأمراض النباتات ، وبالرغم من البحوث الكثيرة التى تركزت حول هذه العلاقات فحتى الآن لاتزال هناك نقاط كثيرة لم تتكامل معلوماتنا عنها وبعضها مازال يكتنفها الغموض .

وتتم دراسة تأثير ميكروبات الريزوسفير على النبات بزراعة النبات فى تربة معقمة واخرى غير معقمة ثم المقارنة بينهما .

التأثيرات المفيدة لميكروبات الريزوسفير على النباتات :

أن منطقة الريزوسفير كما سبق أن أوضحنا تتميز بوجود اعداد كبيرة من الميكروبات ومن سلالات ذات نشاط حيوى أعلى مقارنة مع ميكروبات التربة البعيدة عن الجذور، لذلك فمن الواضح ان وجود اعداد كبيرة من الميكروبات التى تجهز للنباتات احتياجاتها الغذائية حول الجذور يمكن أن تلعب دورا رئيسيا فى تغذية النبات ، ولقد اوضحت كثير من الدراسات أن النباتات تنمو نموا جيدا وتكون أقدر على امتصاص كثير من العناصر المعدنية الضرورية لنموها فى وجود الميكروبات عنه فى غيابها ، فلقد اتضح على سبيل المثال ان النباتات النامية فى تربة معقمة فى المعمل تعطى حاصلا أقل وامتصاصا اقل للفوسفور عن النباتات النامية فى التربة غير المعقمة ، كما اتضح من دراسات عديدة دور الميكروبات فى اذابة مركبات الفوسفور غير الذائبة فى التربة وبالتالى تجهيزها فى صورة ميسرة للنباتات ، كما اتضح دور الميكورهيزا Mycorrhiza فى امتصاص النبات للفوسفور والبوتاسيوم ، كما ان ميكروبات الريزوسفير تزيد جهازية الحديد والمنجنيز للنبات ، ويفسر البعض دور ميكروبات الريزوسفير فى زيادة جهازية العناصر المعدنية على اساس المركبات العضوية التى تكونها اثناء عمليات التمثيل الغذائى، وهذه المركبات تكون مركبات معقدة مع العناصر المعدنية أو تعمل عمل المركبات المخلبية Chelating compounds فى تسهيل دخول هذه العناصر الى النبات .

ولقد أوضحت كثير من الدراسات ايضا ان كثير من ميكروبات الريزوسفير تكون موادا بيولوجية لها تأثيرات مشجعة لنمو النباتات ، فقد لوحظ افراز عديد من الميكروبات فى الرايزوسفير للاكسينات auxins والجبريلينات Gibberellins والمواد الشبيهة ومثل

هذه المركبات معروف دورها في تشجيع انبات البذور وتكوين الشعيرات الجذرية وزيادة نمو النباتات وقابليتها على امتصاص العناصر .

كما تبين من الدراسات أن ميكروبات الريزوسفير لها تأثير مفيد على العلاقة التكافلية بين بكتريا العقد الجذرية وجذور النباتات البقولية ، فقد اتضح من بعض الدراسات أن بعض سلالات الريزوبيا Rhizobia لاتكون فعالة في الظروف المعقمة ، ولكنها تكون فعالة في وجود ميكروبات الريزوسفير العادية .

التأثيرات الضارة لميكروبات الريزوسفير على النباتات :

Injurious Effects of Rhizosphere Microflora on Plants

لقد أشرنا فيما سبق الى بعض العلاقات المفيدة الهامة بين ميكروبات الريزوسفير والنباتات ، ويمكن من ناحية اخرى أن نلاحظ أن وجود اعداد كبيرة من الميكروبات ذات نشاط تمثيلي عالي في المنطقة التي تمتص منها النباتات الغذاء ،قد يكون له في بعض الاحوال تأثيرات ضارة على نمو النباتات،خصوصا عندما تتنافس هذه الميكروبات مع النباتات على بعض العناصر الضرورية الموجودة بكمية محدودة في التربة ، أو الاكسوجين أو قد تشجيع الميكروبات المرضية .

ولقد أوضح البعض أن ميكروبات الريزوسفير تنافس النباتات في امتصاص النتروجين من التربة ، حيث تأخذ هذه الميكروبات جزء من النتروجين المتمعدن في التربة وتستخدمه في بناء احسامها (Immobilization) ، وقد لوحظ أن النقص في النتروجين المعدني الجاهز يرتبط ايجابيا باعداد الميكروبات في الريزوسفير . ولقد لوحظت علاقات مشابهة مع عناصر غذائية اخرى ، فقد لوحظ أن ميكروبات الريزوسفير تؤكسد المنجنيز مما يقلل جاهزيته . كما لوحظ أن وجود الميكروبات يقلل من المحتوى المعدني للمادة الجافة للنباتات مقارنة مع النباتات النامية في التربة المعقمة ، وأن امتصاص الكالسيوم يكون اقل في حالة النباتات النامية في التربة غير المعقمة عن التربة المعقمة ، كما لاحظ Katznelson, 1955 * وجود علاقة تنافسية واضحة بين ميكروبات الريزوسفير وجذور النباتات على الفوسفور الذائب . وعموما فان علاقات التنافس تكون اكثر وضوحا عند وجود عنصر بكمية محدودة في نفس الوقت الذي تكون الظروف غير مناسبة للنبات مثل نقص التهوية .

كما لوحظ من بعض الدراسات أن المواد الحيوية التي تكونها الميكروبات في منطقة الريزوسفير قد تكون لها تأثيرات ضارة على نمو النباتات في بعض الاحوال ، وقد لوحظ مثل هذه التأثيرات للتوكسينات toxins ، والمضادات الحيوية Antibiotics وغيرها ، وقد لاحظ بعض الدارسين أن بعض الميكروبات تفرز موادا سامة للنباتات ، وتكون هذه المواد السامة يكون عادة مرتبطا بوجود مادة عضوية سهلة التحلل مع نقص في التهوية .

---

* c.a. Alexander, 1977.

علاقة ميكروبات الريزوسفير بأمراض النبات : Relationship Between Rhizosphere Microflora and Plant Diseases :

أن ميكروبات الريزوسفير عادة ميكروبات غير مرضية،ولكن العلاقات بين هذه الميكروبات سواء التشجيعية أو التنافسية فى منطقة الريزوسفير،قد يكون لها أهمية خاصة بالنسبة لميكروبـــــات التربة الممرضة للنباتات،لان هذه الميكروبات المرضية سوف تخترق منطقة الريزوسفير حتى تصل الى النبات وتبدأ الاصابة ، والعلاقات الميكروبيولوجية فى الريزوسفير قد تؤدى الى استبعاد أو احباط نمو الميكروب المرضى ، أو فى ظروف اخرى قد تؤدى الى تنشيطه .

ومن المعروف أن كثيرا من الميكروبات الممرضة للنباتات تقضى جزءا من حياتها فى التربـة ، مما يعرضها للتأثيرات المضادة للميكروبات التى تعيش فى التربة وخصوصا ميكروبات الريزوسفير ، وأن قدرة عديد من ميكروبات التربة على احباط نمو الميكروبات المرضية يمكن ملاحظته بسهولـة تحت الظروف المعملية،ولكن تقدير مدى هذا التأثير تحت ظروف الحقل صعب .

ويعود التأثير المثبط لميكروبات التربة على نمو الميكروبات المرضية للنبات الى واحد أو اكثر من العوامل التالية :

١ - التأثير المباشر نتيجة التطفل .
٢ - تكوين مضادات حيوية .
٣ - انتاج احماض تجعل الوسط ذو درجة حموضة غير مناسبة لنمو الميكروبات المرضية .
٤ - التنافس على العـــناصر الغذائية .
٥ - تنشيط المناعة فى النبات العائل .

وتعتبر مقارنة مدى قدرة الميكروب المرضى فى التربة المعقمة وغير المعقمة من الطـــــرق المتبعة بكثرة لتقدير اثر الميكروبات التى تعيش فى التربة والريزوسفير على الميكروب المرضـى . فمن الملاحظات التى تشاهد بكثرة أن فطريات التربة المرضية soil borne pathogenic fungi تكون أشد اضرارا بالنبات فى التربة المعقمة عن غير المعقمة .

ومن الملاحظات المباشرة على تأثير ميكروبات الريزوسفير على امراض النبات تلك الدراسـة التى اجراها Huber and Anderson, 1966* حيث أظهر أنه عندما يزرع ميكـروب Xanthomonas فى مزرعة مختلطة مع *Fusarium solani* المسبب لمرض تعفـــــــن الجذور root rot فأن ميكروب Xanthomonas يكون مستعمرات كثيفة على هيفـــــات الـFusarium وتؤدى الى حدوث تجمع للميسليوم وتلونه بلون وردى ثم اخيرا يموت الفطـر ، ولقد اتضح أن جنسXanthomonas يشجعه نمو جذور الذرة بينما لا يشجعه جذور الشعير ، لذلك فقد لوحظ أن شدة مرض تعفن الجذور المتسبب عن الـ Fusarium تكون أقل فـــى التربة التى كانت منزرعة سابقا بالذرة من قبل زراعة النبات الحساس لتعفن الجـــــذور .

* c.a. Alexander, 1977.

وكمثل آخر اوضحت الدراسات أن بعض الميكروبات الموجودة على سطح بذور القمح يعطي النبات حماية ضد اصابتها بفطر Helminthosporium عند زراعتها .

كما توجد بحوث تؤيد التأثير المثبط لفطريات Endomycorrhiza على الكائنات الممرضة للجذور ، حيث أنه بغزو الميكوريزا للجذور تحدث به تغيرات فسيولوجية تزيد من مقاومته للكائنات المرضية مثل فطر *Fusarium oxysporum* فى جذور الطماطم ونيماتودا *Meloidogyne incognita* فى جذور القطن .

ولقد اجريت دراسات مختلفة لمحاولة تفسير اختلاف اصناف النبات الواحد فى قابليتها للاصابة بالامراض على اساس ميكروبات الريزوسفير ، فبعض الباحثين يعزون هذا الاختلاف فى القابلية للاصابة الى الاختلاف فى طبيعة افرازات جذور هذه الاصناف مما سبب اختلافا واضحا فى ميكروبات الريزوسفير لهذه الاصناف ، وهذا ينعكس على نشاط الميكروب المرضى ، كما لاحظ البعض أن الاصناف المقاومة للاصابة ببعض الامراض يحتوى الريزوسفير الخاص بها على عديد من الميكروبات المضادة للميكروب الممرض ، ولوحظ أن بعض اصناف الكتان المقاومة للاصابة بالذبول يحتوى الريزوسفير الخاص بها على اعداد اقل من الميكروبات الكلية عن الاصناف القابلة للاصابة،ولكنها تحتوى على اعداد اكبر من الميكروبات المكونة للجراثيم المعروف عنها انها من اكثر انواع البكتريا انتاجا للمضادات الحيوية .

ولقد لوحظ أيضا أن أصناف الكتان المقاومة للامراض تفرز جذورها مادة linamarin، والتى عند تحللها بواسطة ميكروبات الريزوسفير يتكون سيانور الهيدروجين Hydrogen cyanide ، وهذا المركب يحبط نمو الميكروبات المرضية مثل فطريات Fusarium, Helminthosporium ، بينما لا يؤثر على الميكروبات المضادة للميكروبات المرضية مثل فطر *Trichoderma viride* الذى يفرز المضاد المسمى gliotoxin .

ثانيا : ميكروبيولوجيا المنطقة المحيطة بسطح الاوراق (الفللوسفير)

MICROBIOLOGY OF PHYLLOSPHERE

المنطقة الملاصقة للسطح الخضرى للنبات خاصة سطح الاوراق ، تمثل وسط مناسب لنمو الميكروبات عليها من حيث وجود رطوبة وحرارة مناسبة مع مورد مستمر من المواد الغذائية ، - فسطح الاوراق - مثلها كمثل الجذور تفرز الكثير من المواد مثل السكريات والكربوهيدرات والاحماض الامينية والمواد المنشطة للنمو الشبيهة بمركبات حمض الجبريلليك ... وغيرها من المواد التى تشجع نمو الميكروبات ، وكذلك تجد الميكروبات المثبتة للازوت ظروفا مناسبة لنموها - اكثر من غيرها من الميكروبات - فهى تمتاز بعدم اعتمادها على الازوت المرتبط Combined nitrogen كما يناسبها وجود مصادر كربونية عديدة ، كما تستفيد من نمو الميكروبات الهوائية المجاورة لها فى خفضها لضغط الاكسجين pO_2 ، والظاهرة الاخيرة تفسر سبب وجود ميكروبات لا هوائية فى منطقة الفللوسفير .

وعموما فان الادوار التى تلعبها ميكروبات الفللوسفير (سطح الورقة) متعددة حيث أن منها المترمم غير الضار الذى يقوم بتحليل الشموع النباتية أو مايقوم بافراز منظمات النمو ومنها ما يضار الميكروبات المرضية ويحد من اثرها ومنها مايثبت النتروجين . ومن ناحية اخرى فمنها الضار الذى يمرض النبات العائل ويسبب له أضرارا عديدة .

ميكروبات الفللوسفير :

أوضحت الدراسات التى أجراها Ruinen وزملاءه وغيرهم من الباحثين فى الفترة ما بين ١٩٥٦ الى ١٩٧٦*الآتى :

١) يوجد على سطوح أوراق النبات العديد من الميكروبات التى تنمو وتتكاثر فى تتابع واتزان ديناميكى مع الوسط المحيط .

٢) تحتوى سطوح الاوراق فى طور البادرات على أقل عدد من الميكروبات ، ويزيد العدد بازدياد عمر النبات ، ويصل لأقصاه عند نضج النبات وبدء اصفرار الاوراق . ويعود ذلك الى أن افرازات الاوراق المشجعة لنمو الميكروبات تزيد بازدياد عمر الاوراق .

طور نمو النبات :	مرحلة البادرة	مرحلة نضج الأوراق	مرحلة تكوين البذور
	↓	↓	↓
عدد الميكروبات :	عدد قليل ⟵	أقصاه ⟵	قليل

٣) أكثر أنواع الميكروبات وجودا على سطوح اوراق النباتات هى البكتريا ، يليها الخميرة خاصة المنتجة للصبغات pigmented yeasts ثم الفطر ثم الاكتينوميسيتس ، أما الطحالب فوجودها شائع على أوراق النباتات الاستوائية ، وعلى جذوع وفروع أشجار

---

* c.a. Dickinson & Preece, 1976.

المناطق المعتدلة ، ولكنها نادرة الوجود على أوراق نباتات المناطق شبه الاستوائية ومن حيث الفيروسات المتطفلة على البكتريا والفطريات الموجودة على سطح الاوراق فأن دورها غير معروف تماما حتى الآن .

٤) تحتوى سطوح الاوراق Phyllosphere خاصة فى المناطق الحارة والاستوائية على اعداد كبيرة من الميكروبات تصل الى ١٠ ^{٧}/سم^{٢} للبكتريا ، ١٠ ^{٤}/سم^{٢} للفطريات ، ١٠ ^{٤}/سم^{٢} للاكتينومايسيتات .

٥) قد تصل أعداد الازوتوباكتر الى ١٠ ^{٧}/سم^{٢} ومن الانواع السائدة *Azotobacter chroococcum*, *Az. vinelandii* .

٦) وجدت الـ Beijerinckia بكثافة تصل الى ٢ × ١٠ ^{٧} / سم^{٢} فى بعض الحالات .

٧) من الميكروبات المثبتة للنتروجين بكمية قليلة Asymbiotic oligonitogen fixing bacteria والتى وجدت على سطوح الاوراق :
Azomonas, Klebsiella, Azospirillum, Bacillus, Mycobacterium ... etc.

٨) وبالاضافة الى تلك الميكروبات ، فقد وجد أيضا على سطح الاوراق الميكروبات التالية :
Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Micrococcus, Cladosporium. ، كما توجد الطحالب والخمائر والبروتوزوا على سطح الاوراق .

من حيث الخمائر الموجودة فى منطقة الفللوسفير ، فأن المصدر الرئيسى لها هى الخمائر الموجودة اصلا بالتربة المنزرع بها النبات ، وعلى ذلك فأن اعداد وأنواع الخمائر الموجودة فى منطقة الفللوسفير تتمشى مع تلك الموجودة بالتربة ، وان كانت تقل عنها قليلا فى العدد . ومن أهم الخمائر التى عزلت من منطقة الفللوسفير بالاراضى المصرية هى الخمائر غير المتجرثمة خاصة: *Rhodotorula glutinis*, *Cryptococcus albicans* .

وتمتاز الخمائر الملونة (Rhodotorula) باحتوائها على صبغات كاروتينية تحميها من التأثير الضار لأشعة الشمس والأشعة فوق البنفسجية ، أما خمائر Cryptococcus فان لها كابسولة تحميها .

وتمثل الخمائر غير المتجرثمة حوالى من ٧٠ - ٨٠٪ من أنواع الخمائر المعزولة من الفللوسفير ، أما الخمائر المكونة لجراثيم اسكية فان اعدادها قليلة جدا .

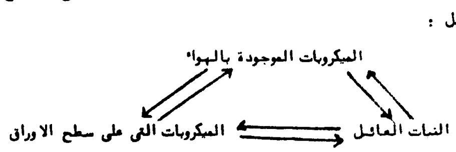
تصل بعض الميكروبات الى سطح الاوراق والاجزاء النباتية الهوائية من التربة والماء والحشرات والطيور والحيوانات الاخرى ، لذلك يجب أن يميز بين الميكروبات القاطنة resident والميكروبات المنقولة Transient .

تتأثر اعداد وأنواع الميكروبات الموجودة على سطوح الاوراق بعوامل عديدة منها نوع النبات وعمره ، الظروف المناخية (مثل الحرارة ، المطر ، الرياح) ، الفصل من السنة ، المعاملة الزراعية ، فاستعمال مواد كيماوية مثلا يؤثر على الاتزان الميكروبى الموجود على سطح الاوراق أما مباشرة بالتأثير على الميكروبات نفسها أو غير مباشرة باحداث تغيير فى فسيولوجيا النبات العائل .

عموما فأن التأثير على الميكروبات قد يكون مفيدا كتقليل عدد الميكروبات المرضية ، أو ضارا اذا ما اضيفت ميكروبات مرضية جديدة .

كما يتأثر عدد الميكروبات وانواعها بنوعية المواد المفرزة من الاوراق ، فقد تكون هذه المواد مشجعة للنمو ، وقد تكون فى بعض الاحيان مثبطة مثل مركبات الفينول والاحماض التى تخفض الـ pH وغيرها من المواد .

ويوضح الرسم التالى العلاقات المتبادلة بين الميكروبات الموجودة بالهواء وعلى سطح الاوراق والنبات العائل :



ومن الملاحظ أنه فى المناطق الممطرة فأن أغلب افرازات الاوراق والميكروبات النامية عليها تسقط الى التربة حيث تزيد من نشاط وكفاءة ميكروبات التربة ، كما أن الاوراق عندما تتساقط الى التربة فأن ما عليها من كائنات مجهرية تساعد على تحللها .

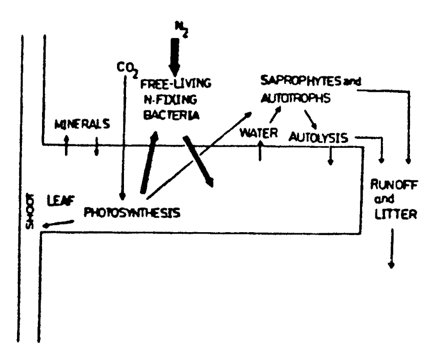
وعموما فأن نمو ميكروبات الفللوسفير وكذلك ماتحتويه سطوح الاوراق من افرازات The phyllosphere exudates تعتمد على الظروف المناخية بالمنطقة ، فالحرارة المرتفعة مع توفر الندى كما يحدث فى المناطق المدارية تعتبر عاملا مشجعا لميكروبات الفللوسفير فى كثير من النباتات .

والشكل رقم (١٥-٢) يوضح العلاقات التبادلية بين ميكروبات سطح الاوراق والورقة نفسها .

تثبيت النتروجين فى منطقة الفللوسفير :

Nitrogen Fixation in the Phyllosphere

تصل الميكروبات المثبتة لنتروجين الجو الى سطح الاوراق من الوسط المحيط بالنباتات كالهواء والاتربة وغيرها ، وتجد هذه الميكروبات على الفللوسفير - كما ذكر سابقا - وسطا مناسبا لنموها ولتثبيت الازوت .



Diagrammatic representation of possible interactions between phylloplane microorganisms and leaf

(From Subba Rao, 1982)

شكل رقم (١٥-٢) : رسم توضيحى يبين العلاقات المتبادلة بين ميكروبات الفللوسفير وأوراق النبات .

وتقوم هذه الميكروبات بعملية التثبيت فى نباتات المحاصيل العادية كما وجد أنهـــــا تثبت الازوت ايضا فى اشجار المخروطيات Conifers والغابات واشجار المناطق المعتدلة ، ومن الاشجار التى عزلت من اسطح اوراقها ميكروبات مثبتة للنتروجين :

Fir, Larch, Cyprus, Pine, Oak, Beach, Sycamore, Alder.

الازوت المثبت يتحول الى احماض امينية مثل الجلوتاميك ، الاسبارتيك ، وهو اما ان تستفيـد منه الميكروبات المجاورة ، أو يمتص بواسطة النبات مباشرة ، أو ينساب الى الارض .



١٦- الاتزان الميكروبى فى التربة
MICROBIAL EQUILIBRIUM IN SOIL

الميكروبات فى وسطها الطبيعى التى تعيش فيه توجد بينها وبين بعضها عديد مـــن العلاقات وهذه العلاقات العديدة بين مختلف المجموعات الميكروبية فى التربة فى تغيـــرات مستمرة تعطى علاقة ديناميكية مميزة للمجموعة الميكروبية لكل تربة .

ومن المعروف أن المحتوى الميكروبى Microflora فى أى وسط يتحكم فيه الاتـــزان البيولوجى الناتج عن علاقات التعاون والتضاد والتداخل بين عمل أفراد المجموعـــة الميكروبيولوجية ، وتؤدى التغيرات البيئية Environmental changes الى اختلال مؤقت فى الاتزان البيولوجى ولكن حالة الاتزان لاتلبث أن تعود الى مستواها العادى أو قد تعود بصورة معدلة قليلا لتلائم التغير الجديد فى ظروف الوسط .

توجد الميكروبات المختلفة فى التربة فى صورة معقدة ويتداخل فعلها بطريقة تختلف كثيرا عن مايحدث فى المزارع النقية لهذه الميكروبات . فكثير من الميكروبات الموجودة فى التربة تعتمد علـــى غيرهـــا فى امدادها بمواد لازمة لنموها بينما البعض الآخر تنتج نواتج معينـــة يستخدمها البعض الآخر ، وكل هذا يخلق ظروف مساعدة وظروف مضادة لنمو المجموعـــات الميكروبية المختلفة فى التربة .

والعلاقة بين جنسين موجودين من ميكروبات التربة تظهر فى صور عديدة منها :

أ) علاقات محايدة : Neutralism

أى أن النوعـــين ليس لهما علاقة ببعضهما ولا يتأثر أيهما بنمو الآخر . هذه العلاقة وان كانت موجودة ، الا انها نادرة الحدوث فى الوسط الطبيعـــى للميكروبات ، حيث انها تحدث تحت ظروف معينة كأن يكون عدد الميكروبات فى الوســط قليل ، والاحتياجات الغذائية لكل نوع يختلف عن احتياجات النوع الآخر ، بالاضافـــة الى الامداد الغذائى المتوفر .

ب) علاقات تعاونية : Mutual or Beneficial relations

ومن امثلتها :

١ - المعايشة Commensalism أو المنفعة لطرف واحد ، وفيها احد النوعين يستفيد من وجود النوع الاخر بينما النوع الثانى لايستفيد منه .

٢ - التنشيط Syngergism وهى قدرة النوعين مع بعضهما على القيام بعمل أو تفاعل لم يكن أى منهما قادر على القيام به منفردا .

٣ - التعاون Protocooperation وفيها العلاقة بين النوعين ذات فائـــدة كبيرة لكل منهما ولكن غياب هذه العلاقة لا يؤثر على وجودهما ، أى أن التعـــاون ليس اجباريا بينهما Non-obligatory mutualism .

٤ - التكافل Symbiosis وفيها كلا النوعين يعتمد على الآخر وكل منهما يستفيد مـــن وجود الآخر معه .

جـ) علاقات تنافس Antagonistic relations ومن امثلتها :

١ - التنافس Competition وفيها يتنازع النوعين على نوع محدود من الغـــذاء أو الاكسوجين أو المكان أو أى ضرورة من ضروريات البقاء مما يؤدى الى أن نمـــو احدهما يسود على نمو الآخر .

٢ - الاضرار Amensalism وفيها أحد النوعين يضار من وجود الآخر ولكن الآخـــر لا يتأثر وذلك نتيجة افراز النوع المؤثر لمادة سامة للنوع المتأثر أو لقيامه بتغيير ظروف الوسط .

٣ - الافتراس والتطفل Predation & Parasitism وفيه احد النوعين يهاجم مباشرة النوع الآخـر .

ونظرا لهذه العلاقات المتعددة فأنه من الصعب نجاح تلقيح ميكروب غريب فى تربـــة ونجاحه فى الاستمرار والزيادة فيها ،وذلك لان غياب هذا الميكروب أو وجوده باعداد قليلـــة فى التربة من الاصل مثل وضعه فيها يظهر أن ظروف هذه التربة غير ملائمة لنموه .

ومن هذا يتبين أن التغيرات التى تحدث بعد اضافة نوع غريب من البكتريا أو الفطر الى التربـــة تكون وقتية وعادة مايموت هذا النوع ويختفى بعد فترة .

العلاقات التعاونية بين ميكروبات التربة : Beneficial Associations

ان العلاقات التشجيعية أو التعاونية التى ذكرت سابقا وهى التعايش والتنشيط والتعاون والتكافل Commensalism, Synergism, Protocooperation, Symbiosis تظهر بصورة واضحة بين ميكروبات التربة .

ومن أكثر العلاقات التعاونية بين ميكروبات التربة وجودا هى تلك العلاقة بين نوعـــين احدهما قادر على مهاجمة وتحليل مادة لا يقدر الاخر على تحليلها ،وتكون نواتج التحلل بواسطة الميكروب الاول ملائمة لتغذية الميكروب الثانى ،وهذه صورة من التعايـــش Commensalism

منتشرة فى التربة،وفيها مثلا يمكن أن تتحول عدد من السكريات المعقدة الى صورة ملائمة لتغذية بعض المجموعات الميكروبيولوجية غير المتخصصة فى تحليلها للمركب المعقد،ومن الامثلة الواضحة لهذا قيام البكتريا والفطريات المحللة للسليولوز بتحوله الى سكريات بسيطة أو أحماض عضوية تستخدم بواسطة الميكروبات غير المحللة للسليولوز .

والمثل الثانى من التعايش Comensalism يظهر من حاجة عديد من ميكروبات التربة الى مواد مساعدة للنمو Accessory growth substances،وهذه المواد المساعدة للنمو تكونها ميكروبات اخرى،ويؤدى افرازها فى الوسط الى نمو الميكروبات المعقدة التغذية التى تحتاج هذه المواد ، وذلك كما فى حالة الخميرة *Saccharomyces cerevisieae* التى تفرز اثناء نموها بعض المواد المساعدة على النمو مثل الفيتامينات وحمض النيكوتينك والبيورين،فتشجع نمو الميكروبات الاخرى المستفيدة Commensals مثل *Lactobacillus; Proteus vulgaris* .

والمثل الثالث قيام بعض ميكروبات التربة بتحليل السموم والمواد المثبطة للنمو التى تفرز فى التربة نتيجة نشاط ميكروبات معينة،وتحليل هذه المواد يعطى المجال للميكروبات الحساسة لها لتنمو وتقوم بنشاطها .

والمثل الرابع للتعايش هو قيام الميكروبات الهوائية بالنمو واستهلاك الاكسوجين مما يسمح للميكروبات اللاهوائية بالنمو بسهولة بعد ذلك .

الكائنات المستفيدة قد توجد خارج العائل Ectino commensals،كما فى حالة البكتريا التى تحيط بأسطح هيفات الفطر وخيوط الطحالب حيث تستفيد من افرازات العائل ، أو قد توجد داخل العائل وتسمى Endo commensals كما فى حالة البكتريا التى تعيش داخل الجهاز الهضمى للكائنات البحرية والفقاريات الارضية.

ومن صور العلاقات التعاونية بين الميكروبات التى توضح معنى التنشيط Synergism ما لوحظ من أن تحليل بعض المركبات الطبيعية يكون أسرع فى المزارع المختلطة عن المزارع الميكروبية النقية . وقد يعزى زيادة النشاط فى المزارع المختلطة لقدرة احد الميكروبين على التخلص من نواتج التخمر التى قد تؤثر على نمو الميكروب الآخر،أو أن أحد الميكروبين ينتج موادا مشجعة لنمو النوع الآخر . وعموما فأن هذا النوع من التعاون غير نادر الحدوث فى التربة ، واذا كان هذا النوع من التعاون شديد وواضح ، فقد يطلق عليه اصطلاح التكافل الغذائى Nutritional symbiosis ، وقد لوحظ هذا النوع من التعاون بين مزرعتين أو ثلاثة مزارع مع بعضهم فى مزارع مختلطة،فمثلا فى بيئة خالية من الـ folic acid, phenylalanine فأن كلا من :- *Streptococcus faecalis, Lactobacillus arabinosus* لاتستطيعان النمو لان الاول

يحتاج الى phenylalanine والثانى يحتاج الى folic acid ، وعلى ذلك ففى المزرعة المختلطة فأن الاثنين يستطيعان النمو فى نفس البيئة الخالية من المادتين حيث تمثل كل من المزرعتين المادة الناقصة للمزرعة الثانية ، ومثل هذه العلاقة الغذائية لوحظت فى التربة بين عديد من الفطريات والبكتريا يعاون كل منهم الآخر فى الامداد باحتياجاته من الاحماض الامينية والفيتامينات والـ purines، وهذه الحالة تفسر وجود هذا النوع القوى من التعاون بين بعض الميكروبات .

وفى التربة فأن كثيرا من ميكروبات التربة الاصلية أو الدائمة تتطلب أو يشجع نموها بعض الفيتامينات التابعة لمجموعة B وبعض الاحماض الامينية ، وعلى ذلك فانها لا تنمو فى البيئة البسيطة ما لم تضاف لها المواد المطلوبة للنمو، ووجود هذه الميكروبات التى لها احتياجات غذائية محدودة فى الطبيعة يتطلب امدادها باستمرار بهذه الاحتياجات، ووجود هذه الميكروبات فى التربة باستمرار معناه ان هذه المواد موجودة فى التربة نتيجة النشاط الميكروبى .

من أمثلة التنشيط الواضحة ما لاحظه Katayama et al* سنة ١٩٦٥، من أن احدى سلالات Rhodopseudomonas لا تستطيع تثبيت الازوت الجوى فى المزرعة النقية فى glycerol or starch media، ولكنها تثبت كميات لا بأس بها من النتروجين الجوى عند ما تنمو فى مزرعة مختلطة مع *Bacillus megatherium* أو *B. subtilis* وهناك أمثلة شبيهة لهذا المثل مع ميكروبات اخرى . كما أن البكتريا اللاهوائية الممثلة للضوء تزداد كفاءتها فى تثبيت الازوت فى وجودها مع مزارع خليطة من الميكروبات الهيتروتروفية .

والتعاون Protocooperation له أهمية خاصة فى تثبيت الازوت الجوى بواسطة الازوتوباكتر ، فهذا الميكروب يثبت الازوت الجوى ولكنه يحتاج الى مصادر كربون عضوية سهلة ، وعلى ذلك ففى وجود مادة كربوايدراتية معقدة مثل السليولوز فأن الازوتوباكتر يمكنه فقط تثبيت الازوت الجوى خلال وجوده مع البكتريا المحللة للسليولوز القادرة على تحويل السليولوز الى سكريات بسيطة وأحماض عضوية وبالمثل فى حالة وجود النشا والمواد الكربوايدراتية الاخرى التى لا يستطيع الازوتوباكتر تمثيلها ، وقد تعيش الازوتوباكتر فى معيشة تعاونية ايضا مع الطحالب التى تمد الازوتوباكتر بما يلزمها من الكربوايدرات التى تبنيها فى عملية التمثيل الضوئى من CO_2 .

ومن أمثلة العلاقات التعاونية بين البكتريا والطحالب ما لاحظه Barker and Pold* سنة ١٩٦١ من أن الـ Streptomyces يشجع نمو طحلب الـ Chlamydomonas ، ونمو هذا الطحلب يشجع نمو الـ Streptomyces، ولقد فسر هذا التشجيع المتبادل نتيجة لتبادل O_2 ، CO_2 بين الكائنين كما ان الـ Streptomyces يمد الطحلب بنتروجين فى صورة ذائبة وتحلل السكريات المعقدة التى يفرزها الطحلب فى الوسط مما يساعد على حركة الطحلب .

---

* c.a. Alexander, 1971.

كما لاحظ بعض الباحثين أن تثبيت الازوت الجوى بواسطة الطحالب الخضراء المزرقـــة يشجعه وجود انواع من البكتريا تعيش فى الـ Sheath لهذه الطحالب .

ومن الامثلة الهامة للتكافل Symbiosis بين الاحياء فى التربة ، معيشة تبادل المنفعة بين الميكروبات والنباتات كما فى حالة معيشة تبادل المنفعة بين البكتريا العقدية والنبـــاتات البقولية . وكما هو معروف لا يستطيع أى من النبات أو البكتريا تثبيت الازوت الجوى فى الحالة الحرة ولكن التثبيت يتم فقط خلال معيشة تبادل المنفعة، ومن صور تبادل المنفعة بين النباتات والفطريات هى قيام فطريات Mycorrhiza بعمل الشعيرات الجذرية على جذور بعـــض النباتات فتساعدها على امتصاص الغذاء والماء وفى نفس الوقت يأخذ الفطر احتياجاتـــه الغذائية من النبات .

ومن صور هـذا التـكافل ايضا نبات الازولا ، وفيه يحدث تكافل بين سرخس وطحلـــب وكذلك الاشنات التى يكون التكافل فيه بين فطر وطحلب .

والجدول رقم (١٦-١) يوضح مدى اعتماد الميكروب على العائل ، حيث تزداد حالـــة التعاون كلما اتجهت لاسفل .

Table (16-1): Increasing dependence on host-plant.

اتجاه زيادة التعـــاون ↓

Microbe	Host-plant
Soil Enterobacter	roots
Azotobacter paspali	Paspalum grass
Cowpea rhizobium	Trema
Rhizobium meliloti	Alfa alfa (Medicago)
Anabaena azollae	Azolla
Frankia	Alder

التعاون بين الميكروبات والحيوان :

بالاضافة الى العلاقات التعاونية السابق ذكرها بين ميكروبات التربة وبعضهـا ، وبينها وبين النبات ، فانه توجد علاقات تعاون ايضا بين الميكروبات والحيوان .

١ - فكثير من الاسماك التى تعيش فى البحار العميقة ، والتى تعرف بالاسماك المضيئـــة ، لها اعضاء معينة تعرف باسم luminous organs تعيش عليها البكتريا المضيئة ،

هذه البكتريا تتعايش مع تلك الاسماك تعاونيا ، وبواسطتها تتم عملية الاضاءة الحيوية .

٢ - يتم هضم السليلوز فى الحيوانات المجترة ، بواسطة البكتريا المحللة للسليلوز والتى توجد فى معدة هذه الحيوانات وتتعاش معها تعاونيا . ونتيجة لتحلل السليلوز ميكروبيا ، وهو مادة عسرة الهضم ، فان الحيوان يحصل على مايحتاجه من عناصر غذائية .

٣ - يعيش فى الامعاء الغليظة للانسان حوالى ٧٠ نوعا من البكتريا تكون مايعرف بالفلورا المعوية Intestinal flora ، وهذه البكتريا تعيش تعاونيا بالامعاء ، حيث تقوم بتحليل الغذاء الذى هضم جزئيا وتنتج اثناء قيامها بعملياتها الحيوية عناصر غذائية وفيتامينات تمتص خلال جدار الامعاء .

العلاقات التنافسية بين ميكروبات التربة :

Antagonistic associations

أظهرت الدراسات أنه عند تلقيح ميكروب فى تربة معقمة فأنه ينمو بسرعة ويصل الى اعداد كبيرة ، بينما اذا اجرى التلقيح فى تربة غير معقمة فأن نمو الميكروب يكون بطيئا وقد يختفى الميكروب ثانية من التربة بعد ايام أو أسابيع، وهذا طبعا ناتج من التأثيرات الضارة لميكروبات التربة على الميكروب الملقح . ووجود تأثير ضار لنوع من الميكروبات على الانواع المجاورة ظاهرة منتشرة فى التربة، وتظهر بوضوح فى نقص الاعداد أو النشاط للميكروبات الحساسة . والعلاقات الضارة أو التنافسية بين نوعين من الميكروبات فى التربة عديدة مما يؤدى الى وجود نضال دائم على البقاء ، وتبقى فى الوسط الميكروبات الاقدر على التأقلم لهذه الظروف المحيطة .

قد يحدث التنافس بين كائنات من أنواع مختلفة ويسمى هذا التنافس Interspecific competition أو قد يحدث بين كائنات من نفس النوع ويسمى فى هذه الحالة Intraspecific competition .

وتختلف الكائنات فى قدرتها على التنافس حيث تزداد قدرة الميكروب على التنافس اذا ماتوفرت له واحدة أو أكثر من العوامل التالية :

١ - المعدل الاسرع فى النمو Rapid growth rate .
٢ - القدرة على تحمل الظروف البيئية المتغيرة من حرارة ورطوبة و pH ..... الخ .
٣ - القدرة على تمثيل وتخزين المواد الغذائية والعوامل المشجعة على النمو .

٤ - القدرة على التحرك من موقع غير مناسب الى آخر مناسب ، وفى هذا الخصوص فأن الميكروبات المتحركة أو التى لها خيوط طويلة قدرتها أكبر على التنافس .

وصور التنافس الميكروبى يمكن تلخيصها فيما يلى :

أ) التنافس بين الانواع على كمية محدودة من الغذاء أو الاكسجين أو الموقع الدقيق .

ب) انتاج نوع من الميكروبات لمواد سامة تحبط نمو الانواع المجاورة .

من ناحية التنافس على الغذاء فأنه عادة ماتكون كمية مادة مغذية ما قليلة فى التربة لذلك تظهر صور التنافس مثل التنافس على مصادر الكربون أو العناصر المعدنية أو الاكسوجين .

ولقد درست العلاقة التنافسية بين ميكروبات التربة تحت ظروف المعمل باستخدام فطر *Fusarium oxysporum* كميكروب اختبار test organism ولقد اظهرت الدراسة ان كثيرامن بكتريا التربة تحبط نمو هذا الفطر ، ولقد لوحظ أن الميكانيكية الاساسية لاحباط نمو الفطر هي التنافس على الغذاء وخصوصا على مصدر النتروجين حيث امكن تلافى التأثير المثبط باضافة مصدر نتروجينى مثل النترات .

أما من ناحية التنافس على مصدر الكربون فى التربة فأن لذلك اهمية خاصة ، ولقد تبين أن قدرة ميكروب ما على التنافس فى التربة يتحكم فيها أولا قدرة الميكروب على استخدام مصادر الكربون الموجودة فى التربة ، ومعدل نمو الميكروب ومدى التعقد فى احتياجاته الغذائية ، وعادة فأن الميكروبات البسيطة التغذية وهى التى ليس لها احتياجات خاصة لنموها تستفيد من هذه الخاصية فى ظروف التنافس ، ولو أن وجود الفيتامينات وعناصر النمو فى التربة تعطى الفرصة للميكروبات معقدة التغذية فى أن تنافسها .

من ناحية المواد المثبطة للنمو ، فأن بعض الكائنات المجهرية تنتج احماضا اثناء نشاطها الغذائى مثل حامض الكربونيك والكبريتيك والنيتريك ، وهذه تؤثر على الميكروبات الحساسة للحموضة .

كما أن من الميكروبات مايفرز - كنواتج للتمثيل الغذائى - موادا سامة للكائنات الاخرى منها مايوقف نمو البكتريا Bacteriostatic أو يقتلها bactericidal . ومن هذه السموم ماتفرزه الطحالب (المزرقة والذهبية والـ Dinoflagellates) وتسمى Phycotoxins تنتشر فى الوسط مسببة موت الاصداف والاسماك والطيور والثدييات . كما أن بعض الفطريات تفرز سموما فطرية Mycotoxins مثل سم الافلاتوكسين Aflatoxin الذى تفرزه بعض الفطريات التى من أهمها فطر *Aspergillus flavus* النامى على البذور خاصة حبوب الفول السودانى ، ولهذا السم تأثيره الضار على الطيور والحيوان والانسان .

ومن المواد الهامة التى تفرزها ميكروبات التربة ايضا المضادات الحيوية .

انتاج المضادات الحيوية : Production of Antibiotics

يلاحظ عادة أن تلقيح طبق بترى يحتوى على بيئة غنية بمعلق تربة مخفف يؤدى الى نمو عديد من الفطريات والبكتريا والاكتينوميسيتس متجاورة فى الطبق وبعض المستعمرات يلاحظ انها تحاط بمنطقة خالية من أى نموات لاى ميكروبات أخرى . وظهور هذه الميكروبات الخالية من النمو تعتبر تأكيدا على أن هذا الميكروب يفرز مضادات حيوية . ويعرف المضاد الحيوى Antibiotic بأنه مادة يفرزها كائن يمكنها فى تركيزات مخففة أن تحبط نمو كائن حى آخر . ويمكن التأكد من قدرة ميكروب على افراز المضاد الحيوى بعمل تخطيط لطبق من الآجار المغذى بهذا الميكروب ثم بعد يومين أو ثلاثة أيام يلقح ميكروب آخر حساس فى نفس الطبق فى خطوط متقاطعة مع خطوط تلقيح الميكروب الاول ، وبعد فترة تحضين ملائمة يشاهد تأثير المضاد الحيوى على الميكروب النامى .

وكثير من ميكروبات التربة يمكنها أن تنتج مواد محبطة لنمو ميكروبات اخرى ، وليس من الصعب عزل سلالات من التربة ذات قدرة على أن تضاد نمو البكتريا أو الفطريات والاكتينوميسيتس ، وسهولة عزل هذه الميكروبات يبين أنها واسعة الانتشار فى التربة ، ولقد تبين أن عديد من البكتريا والفطريات والاكتينوميسيتس يمكنها افراز المضادات الحيوية وتعتبر الاكتينوميسيتس اكثرها نشاطا فى هذا الخصوص ، وتعتبر المضادات Streptomycin, chlorotetracycline, chloramphenicol امثلة للعديد من المضادات الحيوية ذات القيمة العلاجية العالية التى تفرزها الاكتينوميسيتس ومن بين الاجناس التابعة لمجموعة الاكتينوميسيتس يعتبر جنس Streptomyces اكثرها قدرة على افراز المضادات الحيوية ومع ذلك فأن بعض سلالات الـ Micromonospora, Nocardia تستطيع أيضا انتاج المضادات الحيوية . أما أكثر مجموعات البكتريا قدرة على افراز المضادات الحيوية فهى البكتريا الهوائية المتجرثمة التابعة لجنس Bacillus وبعض سلالات من أنواع تابعة لجنس Pseudomonas ومن الفطريات المنتجة انواع تابعة لاجناس Trichoderma، Aspergillus, Fusarium ، ومن الصعب تحديد اعداد الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية حيث يختلف اعدادها من تربة الى اخرى،كما تختلف نتائج التقدير حسب نوع الميكروب الحساس المستخدم فى اختبار انتاج المضادات الحيوية ، كما أن بعض الميكروبات يمكن أن تنتج أكثر من نوع من المضادات لها تأثيرات مختلفة على أنواع الميكروبات .

ومع أن أعداد الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية فى التربة كبير فأن دورها فى الاتزان الميكروبى وأهميتها فى تحديد الانواع السائدة فى التربة غير معروف جيدا ، ومع ذلك فهناك من الشواهد مايبين أهمية الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية فى التربة منها :

١) وجود اعداد كبيرة من الميكروبات فى التربة لها القدرة على احباط نمو ميكروبات اخرى عند اختبارها فى المعمل .

٢) ان فطريات التربة الاصلية تقاوم فعل المضادات الحيوية من الفطريات الخارجية .

٣) زيادة افراز المضادات الحيوية عند اضافة المواد العضوية للتربة . وفى نفس الوقت فان اضافة المضادات الحيوية للتربة يعتبر احد الوسائل المستخدمة فى مقاومة امراض النبات.

ويرى بعض العلماء ان الانتشار الواسع للميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية فى التربة ادى الى اعطائها اهمية اكبر من اللازم من الناحية البيئية (الايكولوجية) ولكن بالدراسة الدقيقة لم يمكن بيان صورة واضحة لدورها . والعلماء الذين يعارضون الاهمية الكبيرة للمضادات الحيوية فى التوازن الميكروبى فى التربة يبنون رأيهم على جملة نقط هى :

١) لم توجد شواهد تثبت ان قدرة الميكروب على افراز المضاد الحيوى يزيد من قدرة هذا الميكروب على المنافسة والتواجد وأن الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية ليست أكثر تواجدا من الميكروبات غير المنتجة للمضادات الحيوية .

٢) لم يمكن ايجاد علاقة بين الميكروبات التى توجد باعداد كبيرة فى التربة وحساسيتها او مقاومتها للمضادات الحيوية بل لقد ثبت فى كثير من الاحوال ان اكثر الميكروبات وجودا فى التربة هى الحساسة للمضادات الحيوية .

٣) انه عند تلقيح ميكروب غريب فى التربة فأن اختفاءه لا يرتبط بتكوين مواد مضادة لهذا الميكروب وأن ميكانيكية التخلص من الميكروب الغريب يتم بطرق اخرى خلاف المضادات الحيوية .

٤) انه بتلقيح الميكروبات المنتجة للمضادات الحيوية فى التربة لم يمكن ملاحظة تراكم هذه المضادات فى التربة .

٥) ان المضادات الحيوية لو اضيفت للتربة او تكونت فيها فانها تفقد نشاطها بسرعة عن طريق ادمصاصها او نتيجة تفاعلات كيماوية تحللها ميكروبيا .

٦) ان التقديرات الدقيقة لم تثبت وجود المضادات الحيوية بنسب عالية فى التربة .

وبالرغم من هذه الآراء المتعارضة من الاهمية الخاصة للميكروبات المفرزة للمضادات الحيوية فى التربة فأن احدا لم يستبعد أن لهذه الميكروبات اهمية فى النواحى الايكولوجية ، فأن المضادات الحيوية قد تكون لها قوة كبيرة فى مناطق محدودة وهى المناطق التى تحيط بالميكروب المفرز ، وهذه المواد السامة يمكن أن تلعب دورا فى مناطق معينة تكون فيها الظروف مواتية لانتاج هذه المضادات وتكون مادة التفاعل بكمية كافية ، وأنه بالرغم من سرعة ضياع قوة المضاد الحيوى فى التربة فان المنطقة الملاصقة للميكروب المفرز يمكن ان يكون فيها

تركيز المضاد الحيوي مؤثرا ، ولكن طرق التقدير المتاحة حاليا ليست ملائمة لتقدير هـــذه القوة .

الافتراس : Predation

يقوم المفترس Predator بالتغذى على الفريسة Prey مسببا موتها . وعادة ماتكون الفريسة أصغر حجما وأكثر عددا من المفترس ، ويطلق على هذا النوع من التغذية اســـم Phagotrophic feeding .

من الميكروبات المفترسة : Protozoa, Myxomycetes (e.g. genus Dictyostelium), Myxobacteria (e.g. genera Myxococcus, Chondrococcus, Polyangium, Archangium), Dinoflagellated algae (e.g. genera Oxyrrhis, Gymnodinium).

يلاحظ أن كلا من البروتوزوا والفطريات اللزجة والميكسوبكتريا واسعة الانتشار في التربة ، وان كانت الاخيرة أقلها عددا .

تعتبر البكتريا اكثر الاحياء الدقيقة الموجودة تعرضا للافتراس ، ومن أكثر الاحياء قـــدرة على افتراس البكتريا البروتوزوا،وهذه يتغذى بعضها على الملايين من البكتريا يمكن أن تؤثر علـــى التوازن البيولوجي ، فقد لوحظ مثلا أنه في التربة المسمدة تسميدا عضويا جيدا فان هنـــاك علاقة عكسية بين أعداد البكتريا والبروتوزوا ، ولكن عموما فأن اثر ذلك على البكتريا لا يصل الى درجة خطيرة حيث أن أعداد البروتوزوا ايضا يتحكم فيها الاتزان البيولوجي ، وعموما فأنـــه تحت الظروف العادية ، فأنه توجد حالة اتزان بين اعداد المفترسات واعداد الضحايا .

من ملتهمات البكتريا ايضا الفطريات اللزجة حيث تتغذى عليها مباشرة مؤثرة على اعدادها حيث أن لهذه الفطريات مرحلة من النمو تشبه فيها الاميبا .

يكثر وجود الميكسوبكتريا في أكوام السماد وبقايا الاسطبلات وروث الحيوانات ، حيـــث أعداد البكتريا فيها كبير جدا ، وبذلك تسنح الفرصة لزيادة اعداد الميكسوبكتريا في هـــذه المصادر بالتغذى على البكتريا . والميكسوبكتريا تذيب خلايا البكتريا اولا بما تفرزه مــــن انزيمات محللة خارجية ثم تمتص المواد المذابة للتغذية عليها .

والقدرة على تحليل lysis الميكروبات ليست محـدودة في الـ Myxobacteria فان تغذية البكتريا على هيفات الفطريات ظاهرة معروفة ولقد امكن مشاهدتها كثيرا فـــي الشرائح المطمورة Buried slide technique . وقدرة البكتريا على تحليـــل الفطريات يمكن أن تكون احد العوامل المؤثرة على انتشار الفطريات في التربة . فكثير مـــن

الميكروبات التابعة لجنس Bacillus (مثل *B.pumilis*) يمكن أن تفرز انزيمات خارجية قادرة على تحليل ميسليوم الفطريات وهضمها ، وهذه الظاهرة ايضا شوهدت بين أنواع من Streptomyces .

والجدول رقم (١٦-٢) يوضح الميكروبات المفرزة لانزيمات محللة والميكروبات التي تتأثر بها .

Table (16-2):

Microorganisms Producing Lytic Enzymes and Species Susceptible to These Enzymes.

Lytic Organism	Susceptible to Lysis	Resistant to Lytic Species
		Bacteriolytic Organisms
Aeromonas	*Bacillus, Clostridium*	*Pseudomonas, Salmonella*
Chalaropsis	*Corynebacterium, Streptococcus*	*Mycobacterium, Proteus*
Flavobacterium	*Pediococcus, Staphylococcus*	*Micrococcus*
Myxobacterium	*Arthrobacter, Micrococcus*	*Arthrobacter, Escherichia*
Sorangium	*Bacillus, Sarcina*	*Rhizobium, Xanthomonas*
Streptomyces	*Corynebacterium, Bacillus*	*Streptococcus, Sarcina*
		Mycolytic Organisms
Agarbacterium	*Achlya, Pythium*	—
Bacillus	*Alternaria, Penicillium*	*Pythium, Saccharomyces*
Pseudomonas	*Fusarium*	*Rhizoctonia*
Streptomyces	*Aspergillus, Sclerotium*	*Cladosporium, Rhizoctonia*
Streptomyces	*Mucor, Penicillium*	*Alternaria, Helminthosporium*
Verticillium	*Hemileia, Puccinia*	—

(From Alexander, 1971).

وظاهرة تحلل الخلايا الميكروبية lysis ظاهرة واسعة الانتشار ، ويعود ذلك التحلل في الاراضي الى ظاهرتين :

١) التحلل المختلط Heterolysis وفيه تتحلل جدر الخلايا أو الهيفات بواسطة انزيمات خارجية تفرزها الكائنات المهاجمة ، والخلايا التي تحللت جدرها تصبح غير قادرة على المحافظة على مكوناتها وتفقد حيويتها وتموت .

٢) التحلل الذاتي Autolysis وفيه يحدث تحلل ذاتي للخلية الميكروبية أو الهيفات بواسطة انزيمات تفرزها الخلية بنفسها أو تتحلل الخلايا ذاتيا بسبب نقص التغذية .

وتتعرض مجموعة كبيرة من الفطريات للتحلل من النوع المختلط heterolysis بواسطة الانزيمات التي تفرزها بعض أنواع البكتريا والاكتينوميسيتس مثل : Bacillus,

Pseudomonas - Nocardia, Streptomyces ، والتحلل ليس مقصورا فقط على الهيفات بل يمتد الى الجراثيم اللاجنسية كالجراثيم الكونيدية والاسبورانجية وغيرها ، وان كان تحللها يكون بدرجة أبطأ من تحلل الهيفات .

وتتميز الكائنات المهاجمة بقدرتها على افراز انزيمات خاصة بتحليل جدر الخلايا الـــتى تهاجمها ، ومن هذه الانزيمات : Cellulase, chitinase, Peptidoglucan hydrolyzing enzymes التى تحلل السليلوز والكيتين الموجود فى جدر الفطريات ، وكذلك طبقة الميورين الموجودة فى جدر البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة .

بعض أنواع البكتريا تقاوم عملية الافتراس بما تفرزه من مواد لزجة أو بما تكونه من كابســـول كبير أو بتركيبات معينة فى جدر خلاياها أو بماتفرزه من توكسينات أو من صبغات كما فى حالــة البكتريا الملونة Serratia; Chromobacterium مما يصعب عملية الافـــتراس أو قد يمنعها تماما ، لذلك نجد أن الكائنات المفترسة تختار ضحاياها من أنواع معينة . والجدول رقم (١٦-٣) يوضح نماذج لهذا الاختيار .

Table (16-3):
Food Choices of Predators with Broad and Narrow Prey Specificities

Predator	*Prey*
	Nonfastidious Predators
Dictyostelium discoideum	*Aerobacter, Bacillus, Flavobacterium, Micrococcus, Pseudomonas*
Dimorpha	Flagellates, unicellular algae
Mayorella bigemma	Ciliates, diatoms, flagellates, nematodes, rhizopods, rotifers
Noctiluca	Diatoms, dinoflagellates, metazoa
Oxyrrhis marina	Chrysophyta, Chlorophyta, Cryptophyta, Rhodophyta, Bacillariophyta
Uronychia transfuga	Algae, bacteria, ciliates
	Fastidious Ciliates
Actinobolina radians	*Halteria*
Didinium nasutum	*Paramecium*
Woodruffia metabolica	*Paramecium*
Nassula citrea	*Oscillatoria* filaments

(From Alexander, 1971).

يتوقف معدل الافتراس على نوع المفترس والفرسة والظروف البيئية المحيطة . ومـــن التجارب المعملية وجد أن البروتوزوا تستطيع فى كل دورة أنقسام لها من أن تلتهم مايزيـــد من ١٠ آلاف خلية بكتيرية .

والجدول رقم (١٦-٤) يوضح معدل الافتراس لبعض الميكروبات .

Table (16-4):

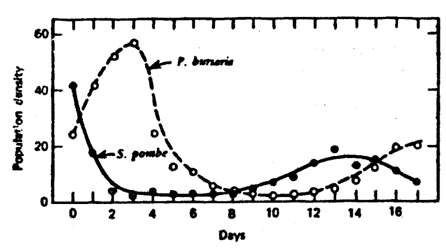
Predator Consumption Rates

Predator	*Prey*	*No. of Prey Consumed*
Amoeba proteus	*Tetrahymena pyriformis*	28–47/hr
Didinium nasutum	*Paramecium aurelia*	3/cell division*
Leucophrys patus	*Glaucoma pyriformis*	50/cell division
Paramecium caudatum	*Bacillus subtilis*	18,000/cell division

* The number of cells consumed in the time required for an individual predator to give rise to two daughters.

(From Alexander, 1971).

شكل رقم (١٦-١) : التغير فى كثافة اعداد البراميسوم الذى يتغذى على الخميره

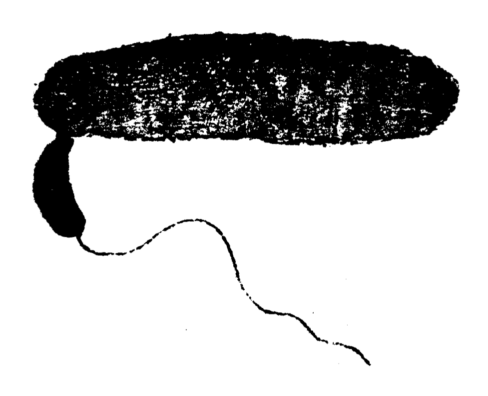


Fluctuations in population density of *Paramecium bursaria* feeding on *Schizosaccharomyces pombe* in vitro. (From Alexander, 1971).

التطفل : Parasitism

الطفيل Parasite كائن يتغذى على خلية أو نسيج عائل آخر عادة أكبر منه حجمـا فيسبب له الضرر ، والتطفل حالة تميز معيشة بعض انواع من البكتريا والفطريات والبروتـــوزوا بالاضافة الى الفيروسات وقد يكون التطفل اختيارى Facultative حيث يستطيع الكائن أن ينمو مستقلا أو متطفلا ، أو قد يكون اجبارى Obligate حيث لا ينمو الكائـــن الا على العائل الحى كما فى بكتريوفاج البكتريا .

شكل رقم (١٦-٢) : التصاق البديللو فيبريو بالبكتريا .

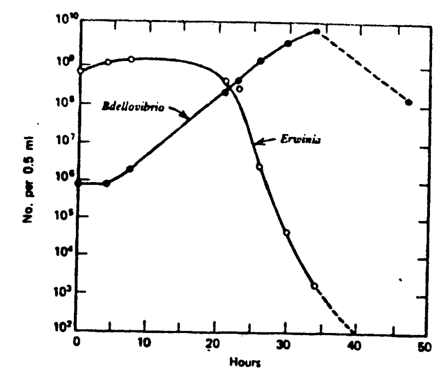


Attachment of *Bdellovibrio bacteriovorus* to a bacterial cell. (From Alexander, 1971).

يتطفل على البكتريا الفيروسات (البكتريوفاج ، الاكتينوفاج ، السيانوفاج ..... الخ). كما يتطفل عليها بكتريا واوية Vibrios منها *Bdellovibrio bacteriovorus* وهى واوية قصيرة،٣ر. um فى القطر ، سالبة لجرام ، متحركة بفلاجيللم طرفى . ورغـــــم أن وجودها بالاراضى غير شائع ، الا ان لوجودها أهمية كبيرة ، اذ انها متطفلة اجباريـــا على خلايا البكتريا الاخرى الاكبر حجما السالبة لجرام مثل *Proteus, Enterobacter*، *Pseudomonas, E. coli, Rhizobium* ، وبذلك فأنها تحد من انتشارها ، وفى مرحلة التطفل فانها تلتصق بسطح العائل ثم تنفذ من جدار الخلية وتسكن بين الجدار والغشاء السيتوبلازمى ثم تتكاثر - على حساب الخلية - وتكون عدة أجيال فى خلال ساعـــات ، ثم تحلل خلية العائل وتخرج منها لتهاجم غيرها .

فى بعض الاحوال فأن الفاج Bacteriophage يلعب دورا فى تحديد اعـــــداد الميكروب الحساس لها،ومن المعروف أن لكل ميكروب فيروس خاص به فاذا وجد الفيروس المتخصص فى التربة فأنه يغزو خلايا العائل ويتكاثر داخله ليكون أعدادا كبيرة من الفيروس ثم تتحـــلل خلايا الميكروب المصاب ويغزو الفيروس غيرها وهكذا ... وقد تؤدى الاصابة بالفيروس الـــى تقليل واختفاء نوع معين كما لوحظ من بعض الدراسات أن سبب عدم تكون العقد الجذرية على بعض النباتات البقولية هو اصابة البكتريا العقدية بالفيروس ويتناقص عددها تبعا لذلك .

شكل رقم (١٦ - ٣) : يبين تطور اعداد البكتريا البدليلوفيبريو عند نموها على العائل.



Development of *Bdellovibrio bacteriovorus* on *Erwinia amylovora*. (From Alexander, 1971).

ولقد امكن مشاهدة قدرة بعض الفطريات على التطفل على فطريات اخرى مما يؤدى لاختفاء الفطر المصاب من التربة ،ويظهر التطفل باختراق هيفات الطفيل لهيفات العائل أو بالتفافها حولها . كما شوهد بعض الفطريات القادرة على الالتفاف حول النيماتودا أو البروتوزوا ، والامساك بها ثم اختراق هيفات الفطر لها والتغذى عليها .



١٧ ـ بعض العمليات الميكروبيولوجية في المزارع

السيلاج Silage

كتب أول وصف علمي لحفظ السيلاج عام ١٨٤٢ بواسطة Grieswald* ، ومنذ ذلك الوقت انتشرت صناعة السيلاج كبديل للدريس في المناطق الرطبة التي لا تساعد ظروفها على على تجفيف الدريس كما في أوربا وأمريكا .

والغرض من عملية السيلجة هو حفظ نباتات العلف الاخضر الزائد عن الحاجة بالتخمر وبذلك يمكن استخدامه في وقت لا يتوفر فيه العلف الاخضر ، وعلى ذلك يعتبر السيلاج أفضل طريقة لحفظ العلف الزائد ، خاصة في المناطق التي لا يتوفر فيها العلف الاخضر لفترات طويلة نتيجة للبرد القارص شتاء أو الجفاف الشديد صيفا ، فهو اقرب الاعلاف المحفوظة للعلف الاخضر .

ويعرف السيلاج بأنه العلف الاخضر الرطب المخزون في صومعة Silo أو حفرة تتوفر فيها الظروف المناسبة للتخمير والتخزين .

وفي مصر يعمل السيلاج في فصل الشتاء ويستهلك في الصيف عند ندرة العلف الاخضر .

المحاصيل التي يعمل منها السيلاج :

المحصول الملائم لعمل السيلاج ، هو الذي يعطي محصولا خضريا كبيرا وبعد حفظه يعطي سيلاجا مغذيا شهيا سهل الهضم .

ويستخدم لذلك الحشائش باختلاف أنواعها والنباتات البقولية المختلفة ، غير أن الذرة الصفراء تعتبر المحصول الاول المناسب لعمل السيلاج ، يليها الذرة البيضاء وحشيشة السودان ، ثم محاصيل الحبوب الشتوية والاعلاف النجيلية وغيرها من المحاصيل ذات النمو الخضري الجيد .

السيلاج الجيد :

يكون السيلاج جيدا اذا توفرت به الظروف التالية :

١ - أن يكون نظيفا وذو طعم ورائحة مقبولة ، خالي من حمض البيوتيريك أو تحلل بروتيني أو تعفن .

٢ - تتراوح حموضته بين pH ٥ر٣ - ٢ر٤ .

* من : طه ومحمود ١٩٦٦ .

٣ - تكون نسبة الامونيا به أقل من ١٠٪ من مجموع النتروجين الكلى به .
٤ - تتراوح نسبة حامض اللاكتيك به بين ٢ - ٣٪ وحامض الخليك من ٢ر٠ - ٥ر٠ ٪ .

طريقة عمل السيلاج :

١ - يحصد المحصول الذى سيعمل منه السيلاج ، فى مرحلة نمو مناسبة لانتاج سيلاج عالى القيمة ، ومرحلة النمو المناسبة تختلف حسب ظروف كل محصول والمنطقة ، وعموما فهى :

أ - الذرة الصفراء والبيضاء : فى الطور اللبنى .
ب - البرسيم الحجازى : عند تكون من ١٠ - ٥٥٪ أزهار .
جـ - الاعلاف النجيلية : بعد بزوغ النورات .
د - محاصيل الحبوب الاخرى: من الازهار حتى الطور اللبنى ، تبعا للرغبة فى الحصول على سيلاج عالى القيمة أو سيلاج ذو محصول مرتفع .

٢ - تقطع النباتات الى قطع صغيرة ، وتوضع فى طبقات بسمك ٣٠ سم فى السيلو ، ثم تكبس بالضغط بالايدى ، ثم يغطى سطح الكومة جيدا بعد اكتمالها ، لمنع الهواء والرطوبة من الوصول اليه وذلك بالبولى اثيلين أو البلاستيك أو الورق مع وضع أثقال على الغطاء لمنع تطايره أو اضافة طبقة من التربة بسمك ٣ سم .

٣ - تنمو البكتريا والخميرة والفطريات الملوثة لاسطح هذه النباتات وكذا الموجودة اصلا فى بقايا التربة العالقة ، ثم لا يلبث أن يقف نموها نظرا لعدم كفاية الاكسوجين وتبدأ الميكروبات اللاهوائية فى النشاط فتحول السكريات الموجودة فى هذه النباتات الى أحماض ويتم ذلك بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك الكروية ويستمر فعل هذه البكتريا حتى يصل تركيز الاحماض الى درجة معينة . بعدها تنشط بكتريا حمض اللاكتيك العصوية مثل ميكروب *Lactobacillus brevis* وبذلك تنتج كمية وافرة من الاحماض تسبب وقف نشاط الميكروبات الاخرى وخصوصا المحللة للبروتينات .

بكتريا حامض اللاكتيك العصوية السائدة فى نهاية التخمر هى بكتريا خليطة التخمر Heterofermenter تنتج الاحماض عن طريق التفاعل الآتى :

$$\underset{\text{Lactose}}{C_{12}H_{22}O_{11}} \xrightarrow[H_2O]{\text{Lactase}} \underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Galactose}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow{\text{Pathway (HMP)}}$$

$$\longrightarrow \underset{\text{Lactic}}{CH_3\text{-CHOH-COOH}} + \underset{\text{Acetic}}{CH_3\text{-COOH}} + \underset{\text{Ethanol}}{CH_3\text{-}CH_2OH} + CO_2$$

أهم العوامل الواجب مراعاتها فى عمل السيلاج :

أولا : درجة الحموضة :

يجب أن تصل درجة الحموضة فى السيلاج الى pH 4 بسرعة ، هذا له أهمية كبيرة وذلك للاسباب الآتية :

١) عند pH 4 يقف نمو الميكروبات التى تحلل البروتين مثل ميكروب *Clostridium sporogenes* (تنشط هذه الميكروبات عند pH من ٦ - ٧)، وتحلل البروتين عملية غير مرغوب فيها نظرا لانها تنتج مواد ذات رائحة كريهة وعلاوة على النقص الذى يحدث فى نسبة البروتين فى السيلاج .

٢) عند pH 4 يقف نمو البكتريا التى تحول حمض اللاكتيك والسكر الى حمض بيوتريك مثل *Clostridium butyricum*، ومن الجدير بالذكر أن رائحة حامض البيوتريك غير مرغوبة لدى الحيوانات التى تحجم عن أكل السيلاج الذى به هذه الرائحة .

وعموما يمكن الاسراع فى الوصول الى درجة الحموضة المطلوبة عن طريق :

أ - اضافة مواد سكرية (عادة يضاف مادة المولاس بعد تخفيفه بالماء) بنسبة ١ - ٣ ٪ الى النباتات البقولية ، وعموما تتوقف الكمية المضافة على عدة عوامل منها نوع النباتات وعمرها وكمية الرطوبة ونسبة الكربوايدرات فى النباتات ... الخ .

ب - اضافة ٤ أجزاء من حامض HCl الى جزء من حمض الكبريتيك بنسبة ١٠٠ لتر (2 N) الى كل طن من النباتات البقولية (النباتات الغنية بالبروتينات) ، هذه الكمية تخفض الرقم الايدروجينى الى ٤، مما يمنع نمو الميكروبات التعفنية وفى نفس الوقت يشجع ميكروبات حمض اللاكتيك وتسمى هذه الطريقة بطريقة A.I. Vertanen*. ولقد استعمل ايضا حامض الفوسفوريك فى هذا الغرض بنسبة ٢٠ - ٣٠ رطل من الحامض (٧٥ ٪ تركيز) الى كل طن من النباتات البقولية . وهذه الطريقة يقتصر استعمالها على فنلندا لانها تعطى سيلاج غير مستساغ لبعض للحيوانات وذو طعم لاذع بالاضافة الى ان استعمال الاحماض خطر بالنسبة للفلاحين وليس من السهل خلطها بمواد العلف .

٣) قد يستعمل بادىء من بكتريا حامض اللاكتيك وذلك لزيادة عددها حيث تعمل على خفض الرقم الايدروجينى سريعا وبذا تحد من نشاط الميكروبات التعفنية .

٤) فى امريكا تستعمل مادة sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$) الذى ينتج عن تحلله SO_2 الذى يوقف نشاط كثير من الميكروبات التعفنية، وهو يضاف بنسبة ٠٫٣ - ٠٫٥ ٪ الى سيلاج البرسيم (من ٣ - ٥ كجم لكل طن) .

---

* من : طه ومحمود ١٩٦٦ .

ثانيا : الظروف اللاهوائية :

يجب أن يكون السيلاج مدكوكا لكي لا يتسرب الاكسوجين الى الصومعة فيتلف السيلاج لنمو الفطريات وغيرها من الكائنات غير المرغوب فيها ، ويمكن توفير الظروف اللاهوائية عن طريق تقطيع النباتات وكبسها جيدا وتغطية سطح الكومة ، ونتيجة لتنفس الخلايا النباتية والبكتريا الهوائية ، يستهلك الاكسوجين وينتج CO_2 وبالتالي يتحول الوسط الى ظروف لاهوائية .

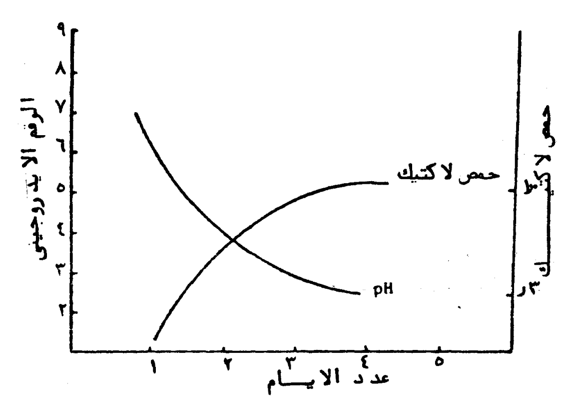
ثالثا : نسبة الرطوبة :

وجد أنه اذا كان هناك كمية زائدة من الرطوبة،فأن الميكروبات التابعة لجنس Clostridium تنمو وتحلل البروتينات وتسبب خسائر اقتصادية بالسيلاج ويكن تلافي ذلك بصرف الماء الزائد ، ويجب الاخذ في الاعتبار ان الصرف السريع يسبب فقد في المواد الغذائية كما انه يتسبب في دخول الاكسوجين مما يؤدي الى نمو الفطريات وفساد السيلاج ، وللتغلب على هذا يضاف مواد تمتص الرطوبة مثل القش ، ويجب الاشارة الى ان الجفاف الزائد (٤٠٪) امر غير مرغوب فيه،حيث يكون من الصعب تحت هذه الظروف التخلص من الاكسوجين (اى سيكون من الصعب ضغطه لوجود المسافات البينية) ، وتعتبر ٦٠٪ رطوبة مناسبة لعملية التخمر .

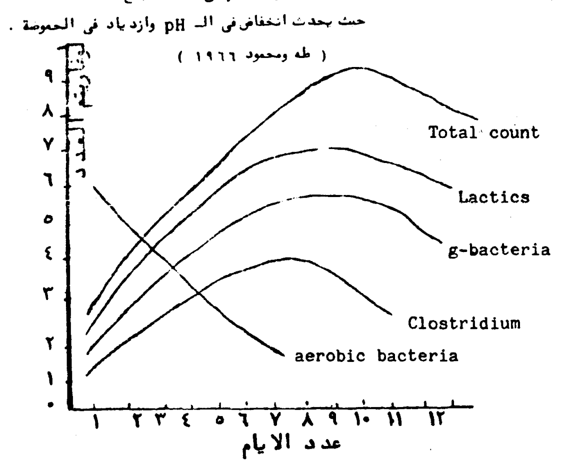
رابعا : توفير درجة حرارة مناسبة :

وجد أنه اذا ارتفعت درجة الحرارة الى ٤٠°م أو أعلى يؤدي الى تقليل نشاط بكتريا حامض اللاكتيك كما تفقد النباتات كثيرا من عصارتها . ولقد تبين ان متابعة درجة الحرارة في الصوامع ، يعطينا فكرة عن ظروف التخمر،فمثلا وجد أن درجة الحرارة لا ترتفع عن ٢٥ - ٣٢°م اذا كان الوسط لاهوائيا ، بينما اذا تسرب هواء الى الصومعة فان درجة الحرارة ترتفع عن ٣٨°م مما يسبب خسارة في الوزن الجاف علاوة على حدوث التخمرات غير المرغوب فيها .

والشكل التالي يوضح معدل نمو أنواع الميكروبات الهامة التي تقوم بعملية التخمر في الاعمار المختلفة،ويلاحظ أن الميكروبات الهوائية قد انخفضت بمعدل كبير بعد البدء في عملية السيلجة وذلك لاستهلاكها الاكسوجين وكذا لتنفس النبات ، كما يلاحظ ان بكتريا حامض اللاكتيك هي الغالبة .



شكل رقم (١٧-١) : تطور الحموضة والـ pH فى السيلاج
حيث يحدث انخفاض فى الـ pH وازدياد فى الحموضة .
(طه ومحمود ١٩٦٦)



شكل رقم (١٧-٢) : انواع الميكروبات فى السيلاج واعدادها فى الاعمار المختلفة . (طه ومحمود ١٩٦٦)

تعطين نباتات الاليـــــــــاف

Retting of fiber plants

الالياف هي المادة الخام التي تصنع منها المنسوجات والاقمشة والحبال والدوبـــارة والارضيات والاغطية وغيرها من الاستعمالات المختلفة . وتؤخذ الالياف الطبيعية مـــن الحيوانات مثل الاغنام والماعز والجمل ودود القز وتركيبها بروتيني ، كما تؤخذ من بعـــض النباتات وتركيبها سليلوزي .

بالنسبة للالياف النباتية فمنها مايوجد في وبـــر البذور كالقطن ، ومنها الياف اللحاء (بين القشرة والخشب) بسيقان بعض النباتات في نباتات ذات الفلقتين كالكتان والتيل والقنب ، ومنها الياف اوراق النباتات كالسيزال والياف الفواكه مثل ليف جوز الهند .

ويعتبر تعطين الكتان والقنب من العمليات البكتريولوجية ذات الفوائد الاقتصاديـــة حيث تستعمل الالياف الموجودة في سوق نبات الكتان بين نسيج القشرة والخشب في صناعة المنسوجات والخيوط اما الياف القنب فتستعمل في صناعة الحبال . وهذه الالياف عبـــارة عن سليلوز ومن الصعب فصلها عن بعضها بالطرق الميكانيكية لان هذا يؤدي الى تمزيقها وبالتالي الى رداءة المنسوجات المصنوعة منها وترجع هذه الصعوبة اساسا الى ان هذه الالياف تلتصق ببعضها وبالخلايا الاخرى بمادة البكتين واملاح حامض البكتيك لذلك فاننـــا نلجأ الى اذابة البكتين بعملية التعطين والتي فيها تقوم انواع من الميكروبات بتحلـــــيل البكتين عن طريق افرازها لمجموعة انزيمات البكتينيز (انظر ص ١٠٠ - ١٠٤) .

والتعطين Retting كلمة قديمة معناها النقع في الماء . وقبل اجراء عمليـــة التعطين يجب أن تجهز النباتات كما يلي :

١) تنزع الثمار مع ترك النباتات الضعيفة والتي بها عيوب قد تؤثر في جودة الالياف .
٢) تفرز النباتات ذات الاطوال الواحدة ويعمل منها حزم تعرف بالقبضات وتخزن هـــذه الى ان يحين تعطينها .

الكتان Flax :

الكتان نبات حولي ، اهم انواعه *Linum usitatissimum* ويصل في الطـــول الى حوالي متر ، وتعتبر الياف الكتان من أقدم ما استعمل في صناعة الانسجة . وللحصول على ألياف جيدة ، تجمع السيقان عقب سقوط الازهار ، ثم تجهز السيقان وتجرى عليهـــا عملية التعطين .

طرق تعطين الكتان :

تجرى عملية التعطين بطريقتين رئيسيتين :

١) الطريقة اللاهوائية :

وهذه تشمل نقع الكتان فى ماء جارى أو راكد ، وهنا يتم التعطين اساسا بفعل البكتريا . ولقد استخدم المصريون القدماء هذه الطريقة منذ آلاف السنين وذلك بوضع الكتان فى ترع وقنوات النيل،وتجرى هذه الطريقة أيضا فى كل من بلجيكا والمانيا وهولندا، أما فى ايطاليا وأيرلندا فتستعمل المياه الراكدة .

٢) الطريقة الهوائية :

وفيها يتم نقع الكتان فى أحواض كبيرة مهواه أو ان يترك فى الهواء الطلق للندى والامطار. والتعطين هنا يتم أساسا بفعل الفطريات .

وعموما يتوقف اختيار الطريقة المناسبة للتعطين على عوامل عديدة منها المناخ ومورد المياه وكمية المحصول والنفقات .

والآن سنتناول المراحل المختلفة للتعطين فى كلا من الطريقتين السابقتين .

أولا : الطريقة اللاهوائية :

وفيها تتم عملية التعطين فى الثلاث مراحل الآتية :

١) المرحلة الطبيعية Physical stage :

وفيها نجد أن سيقان النباتات تمتص الماء فتنتفخ وتخرج منها المواد القابلة للذوبان (تمثل ١٢٪ من الوزن الكلى) ، وهذه تشمل السكريات والجلوكوزيدات والتنينات ومواد نيتروجينية ، وعلى ذلك يصبح الوسط الموجود به السيقان بيئة مناسبة لنمو البكتريا وغيرها من الاحياء الدقيقة .

٢) المرحلة البيولوجية Biological stage :

فى بداية هذا الطور تنشط البكتريا الهوائية لاحتواء الماء على الاكسوجين الذائب والمواد الغذائية المناسبة وكذلك تنمو الخميرة والفطريات على سطح الماء بعد استهلاك هذه الميكروبات الهوائية الاكسوجين المذاب بالماء وتنشط الميكروبات اللاهوائية وتفرز أنزيم البكتينيز الذى يذيب بكتين الصفيحة الوسطى للخلايا البرانشيمية للقشرة والأشعة النخاعية والخشب،وبذلك تنفصل الحزم الوعائية

عن القشرة والخشب ، ويتكون نتيجة لذلك احماض عضوية مثل الخليك والبيوتريك وغيرهما ، وغازات مثل CO_2, H_2, CH_4, H_2S وكحولات مثل الايثانول والبيوتانول واحيانا يتكون الاسيتون، وعموما تختلف هذه النواتج باختلاف انواع الميكروبات والظروف التى يتم فيها عملية التعطين .

ومن أهم الميكروبات اللاهوائية فى عملية التعطين ، ميكروبى *Clostridium pectinovorum, Cl. felsineum* ، وفى الوقت الحالى يستعمل بادئ مكون من الميكروبين السابقين وذلك بعد تنميتها على شرائح بطاطس واضافتهما فى الطور اللوغاريتمى ، ومن المهم جدا ان يراعى عدم الزيادة فى مدة التعطين والا تعدى التحليل الى السليلوز نفسه ، ومن الجدير بالذكر ان سليلوز الالياف لا يتحلل بواسطة البكتريا المرغوبة فى عملية التعطين .

٣) **المرحلة الميكانيكية : Mechanical stage**

وفيها يتبع ما يأتى :

أ - تغسل النباتات جيدا بالماء لازالة الروائح والمواد العالقة من بقايا النباتات والاحماض العضوية وغيرها من المواد، احيانا تضاف مواد قلوية مثل ايدروكسيد الصوديوم لمعادلة الاحماض الموجودة بأحواض التعطين .

ب - تجفف الانسجة المغسولة سواء بأن تنشر الحزم فى الشمس أو بالطرق الصناعية .

جـ - تفصل الالياف بالطرق الميكانيكية عن القشرة والخشب (الساس) وهذه تستعمل فى صناعة الخشب الحبيبى .

درجة حرارة التعطين :

الدرجة المستعمل عادة فى التعطين هى ٢٦ - ٢٨°م أو ٣٠ - ٣٢°م ، واذا تمت عملية التعطين تحت درجات حرارة عالية نسبيا ٣٧°م - ٣٨°م فإن هذا يؤدى الى سرعة التعطين، حيث أن هذه الدرجة المرتفعة تشجع نمو البكتريا الى درجة كبيرة الامر الذى يؤدى الى قصر فترة التعطين، وعادة تعطى هذه الطريقة ألياف قليلة الجودة الا انه قد يتحصل على نتائج حسنة اذا أديرت العملية بكفاءة وخبرة عاليتين .

طريقة كاربون : Carbone retting process

وفيها يتم التعطين تحت الظروف اللا هوائية ايضا حيث يستعمل بادىء مـــــن ميكروب *Cl. felsineum* بنسبة ٠,١ لتر الى كل ١٠ كجم من النباتات الجافـــة . فى هذه الطريقة ترتفع درجة الحرارة فى احواض التعطين الى درجة ٣٧°م - ٣٨°م ، (وهى الدرجة المثلى لنمو هذا الميكروب) ،وتستغرق عملية التعطين ٥٠ ساعـــة . وتجدر الاشارة الى ان اجراء هذه الطريقة بعناية كبيرة وخبرة دقيقة يؤدى الـــــى الحصول على تصافى عالية والياف ذات صفات جيدة ولون لامع .

ثانيا : الطريقة الهوائية :

أ - طريقة Rossi :

تمكن Rossi* من ابتكار طريقة خاصة لتعطين الكتان تحت الظـــــروف الهوائية وذلك باضافة ميكروب *B. comessii* الى سيقان النبات المغمـــورة بالماء بأحواض خاصة ذات درجة حرارة عالية من ٢٨ - ٣٠°م مع مراعاة استمـــرار التهوية.فى هذه الطريقة يقل احتمال زيادة التعطين overretting (الذى يؤدى الى تحليل السليلوز نفسه) بالاضافة الى انها تنتج كمية قليلة مـــــن الاحماض العضوية .

ب - طريقة التعطين بالندى Dew retting :

وفيها تنشر السيقان المراد تعطينها فى طبقات رقيقة على سطح الارض وبذلك تتعرض لتأثير الشمس والندى والمطر ، وفى هذه الطريقة تلعب الفطريات الدور الرئيسى فى التعطين ولو ان البكتريا توجد باعداد كبيرة ، وتتوقـــف جودة التعطين فى هذه الطريقة على الطقس والمكان المفروش عليه السيقـــان والتربة،وعموما هذه الطريقة بسيطة ورخيصة الا انها تعطى تصافى قليلة والياف رديئة .

وجدير بالذكر ان نتائج بحوث القسم فى مجال التعطين تشير الـــى ان كثير من الميكروبات تقوم بعملية التعطين والتى من أهمها :

Cl. felsineum, Cl. roseum, Cl. pectinovorum, B. licheniformis, B. polymyxa, Streptococci,

---

* من : طه ومحمود ١٩٦٦ .

تعطين بعض النباتات الاخرى :

القنب و الجوت (Jute, Hemp :

الجوت نبات حولى ، ويزرع النوع Corchorus بكثرة فى الهند واندونيسيا للحصول على الالياف ، أما النوع المسمى Coliterius فهو أقل أهمية من حيث قيمة الالياف وهو معروف فى مصر باسم الملوخية ، ولا يختلف النوعان الا فى شكل القرون التى تكون فى النبات الأول كرية الشكل ، أما فى الثانى فتكون القرون مستطيلة .

يبلغ طول النبات من ٥ر١ - ٣ متر وسمك الساق حوالى ٥ر١ سم ، وللحصول على الياف جيدة من نبات الجوت ، يحصد النبات وهو فى دور الاثمار ، ثم تخلص السيقان من الاوراق والثمار ، ثم تعطن السوق فى ماء بطئ التيار ، لتتم عملية التعطين بعد بضعة ايام ، تجرى بعدها فصل الالياف بسهولة بالايدى ، لتعمل منها الحبال وزكائب تعبئة المحاصيل .

التيل : Kenaf, *Hibiscus cannabinus*

التيل نبات حولى ، وتنتشر زراعته فى مصر حول حقول القطن وعلى الجسور والطرق لحماية نبات القطن ، وتستخلص الياف التيل لعمل الحبال والزكائب كبديل للجوت فى مصر ، وتمتاز اليافه بمتانتها وقوة تحملها وقلة تأثرها بالرطوبة عن ألياف الجوت .

للحصول على الياف جيدة ، يحصد التيل بعد الازهار ، وتستخلص الالياف من السوق بالتعطين - كما فى شركة الجوت ببلبيس - بطريقة المياه الجارية Flowing retting process ، حيث تنقع سوق التيل فى مياه جارية بأحواض اسمنتية مناسبة ، ويتم التعطين خلال ١٥ - ٢٠ يوما زمن الصيف .

ويترتب على عملية التعطين فى المياه الجارية ، ازالة نواتج التخمر الكربوهيدراتية أولا بأول ، مما يعطى الفرصة للميكروبات المحللة للبكتين بالنمو وفصل الياف التيل .

تلعب الميكروبات الاختيارية واللاهوائية دورا رئيسيا فى هذا التعطين ومن أهم تلك الميكروبات Micrococcus, Streptococcus يلى ذلك فى العدد :
B. polymyxa, Clostridium felsineum, Cl. pectinovorum & Cl. roseum.

جوز الهند : Coconut

فى البلدان التى يوجد بها جوز الهند بكثرة - مثل جزيرة سيلان - تجمع ثمار جوز الهند على فترات طوال العام قد تصل الى ٦ مرات ، توجد الالياف بين البذرة والقشرة

لثمار جوز الهند . فبعد جمع الثمار ، بفصل الغلاف الخارجي للثمرة الذى هو عبارة عن ألياف بواسطة سكين ذات عصى طويل ، ثم توضع الالياف في مجرى مائى لمدة ٦ أسابيع حيث تتم عملية التعطين البيولوجية ، وبذلك يمكن فصل الالياف بواسطة ماكينات يدوية ثم تغزل الالياف فى خيوط .

الخيوط الناتجة قوية متينة وذات لون بنى محمر ، وتستعمل فى عمل الحصر والسجاد وعمل الصليات .

السيزال *Agava sisalina* :

السيزال نبات صحراوى، معمر ، كثير الانتشار بالمناطق الاستوائية ونصف الاستوائية ، وهو نوع من الصبار Agave . ولا يحتاج السيزال فى زراعته الى رعاية خاصة اذ تكفيه الزراعة مع مياه الامطار ، ويستعمل فى تثبيت الكثبان الرملية حول الاراضى الجارى استصلاحها بالمناطق الصحراوية ، كما تستخدم الياف أوراقه فى عمل الحبال والدوبارة .

تجمع أوراق السيزال بقطعها من عند القاعدة بواسطة سكين قوية ، وتظهر الاوراق متورقة متضخمة ، وتؤخذ الالياف منها بالفصل الميكانيكى لتستعمل فى عمل الحبال والدوبارة . وتعتبر الياف السيسال من الالياف الخشنة وتمتاز بمتانة كبيرة وباحتوائها على بللورات لامعة من اكسالات الكالسيوم ، الا انها سريعة العطب بتأثير المياه .
ويستخرج من عصير أوراق هذا النبات الكثير من المركبات الطبية الهامة علاجيا مثل الكورتيزون .

انتاج الغازات بواسطة الميكروبات
PRODUCTION OF BIOGAS

تنتج الغازات بواسطة الميكروبات اثناء نشاطها وتحليلها للمواد العضوية ، ويعتبر البيوجاز الناتج من الميكروبات احدى الوسائل الممكن استعمالها كبديل لمصادر الطاقة التقليدية خاصة فى المناطق الريفية والمناطق النائية التى يصعب توفير البترول لها .

وقد امكن الحصول على غازات قابلة للاشتعال نتيجة لنمو الميكروبات اللاهوائية على المخلفات البرازية للانسان والحيوان،وهى عملية اقتصادية بدرجة كبيرة حيث ان المادة الخام لاثمن لها بل التخلص منها يعتبر ضروريا .

ولقد بدأ الاهتمام بانتاج الغازات بواسطة الميكروبات منذ زمن بعيد يزيد على المائتى عام ، ثم زاد الاهتمام بهذه التكنولوجيا فى بلاد العالم المتطورة والنامية منذ نهاية الحرب العالمية الثانية وماصادفه العالم من ازمات فى الطاقة وزيادة فى الطلب على الاسمدة المعدنية التى ارتفع ثمنها بشكل كبير . ويوجد الآن آلاف الوحدات العاملة لانتاج هذه الغازات فى بلاد عديدة فى اوربا (كالمانيا والنمسا وايطاليا) وآسيا (كالهند والصين وافغانستان) وأفريقيا (كأوغندا وكينيا) .

وبالنسبة لمصر فقد أنشأ أول مخمر لانتاج الغازات ميكروبيا عام١٩٣٩ فى مزرعة الجبل الاصفر باستعمال مخلفات المجارى ، ثمتوالت الدراسات منذ الخمسينات ، وبنى أول مخمر على الطراز الصينى (تحت الارض) بسعة ١٠ م^{3} عام ١٩٧٨ بكلية الزراعة بالفيوم ، وحتى عام ١٩٨٤ كان قد تم انشاء اكثر من ٤٠ مخمر تعمل فى قرى مصر المختلفة . ويوجد الآن ثلاث جهات بحثية مصرية تعطى اهتماما واضحا لدراسة موضوع البيوجاز سواء من الناحية المعملية أو من ناحية التطبيق الحقلى ، وهى مركز البحوث الزراعية بوزارة الزراعة والمركز القومى للبحوث وكلية الزراعة بالفيوم .

المواد الممكن تخميرها لانتاج البيوجاز :

يمكن استعمال جميع المخلفات العضوية فى انتاج الغازات بواسطة الميكروبات ، غير أن أفضل هذه المخلفات من حيث سرعة التخمر هو مخلفات المجارى ، يلى ذلك المخلفات الحيوانية ثم المخلفات النباتية ومخلفات المنازل .

ومما يذكر أن عملية التخمر تزداد صعوبة وتأخذ وقتا أطول كلما زادت نسبة اللجنين بالمخلفات المضافة كما فى حالة حطب القطن .

ويجدر الاشارة الى أن المستعمل فى مصر الآن من المخلفات الزراعية (نباتية أو حيوانية) لانتاج الطاقة ، يوفر ١٠ ٪ فقط من مجموع الطاقة الكلية المنتجة فى مصر سواء فى

صورة مائة أو غازية أو بترولية ... الخ . بينما من الممكن باستخدام تكنولوجيا انتــــاج الغازات مكروبيا من المخلفات توفير حوالى ١٠ ٪ من كمية الطاقة المنتجة فى مصر ، وهــو امر يجب وضعه موضع الاعتبار لاهميته الاقتصادية البالغة .

وتبلغ كمية الناتج من المخلفات الزراعية النباتية فى مصر حوالى ١٥ مليون طن فــى السنة ، منها ٢ مليون طن مصاصة قصب تستخدم فى أفران ومصانع شركة السكر وفى صناعة الورق والخشب الحبيبى . أما الجزء الاكبر من هذه المخلفات ويبلغ حوالى ٩ مليون طــن فى السنة ، فينتج من حطب القطن ، وينتج الباقى من المحاصيل الزراعية الاخــرى ، وبذلك فان هناك جزءا كبيرا من المخلفات الزراعية النباتية بالاضافة الى المخلفــات الحيوانية ومخلفات المجارى والمنازل يمكن استخدامها فى انتاج بدائل الطاقة .

نواتج التخمـــر :

نتيجة لتخمر المواد العضوية بواسطة الميكروبات تحت الظروف اللاهوائية ، فأنــه ينتج خليط من غازات الميثان القابل للاشتعال وثانى اكسيد الكربون غير القابــل للاشتعال، بالاضافة الى غازات اخرى مثل الايدروجين وكبريتور الايدروجين والازوت وثانــى اكسيد الكبريت وأول أكسيد الكربون تكون فى مجموعها اقل من ٥ ٪ من كمية الغاز الناتــج، وبالاضافة الى تلك الغازات تنتج عدة احماض عضوية بمثل حامض الخليك اعلى نسبة فيها .

وتتوقف نسب الغازات الناتجة على الظروف المحيطة بالانتاج من بينها طبيعــة المخلفات وحرارة ومدة التخمر .

ويوضح الجدول التالى اهم الغازات الناتجة من التخمر ونسبتها :

الغـــاز	النسبة المئوية
CH_4	٦٥ - ٥٠
CO_2	٤٥ - ٣٥
N_2	٥ - ١
SO_2	١ - ٠
H_2S	١ - ٠

وغاز الميثان قابل للاشتعال ووجوده مع غاز CO_2 غير القابل للاشتعال يعتبر عامــلا هاما لتعديل درجة اشتعاله ، ولقد وجد أنه عند درجة صفر °م وتحت الضغط الجــوى العادى فان الحرارة الناتجة من لتر واحد من الميثان تساوى ٨٫٥ كالورى ، وهى حــرارة عالية اذا ماقورنت بغاز الايدروجين الذى ينتج اللتر منه تحت نفس الظروف ٢٫٦ كالــورى فقط . ومن هنا يتضح لنا الاهمية الاقتصادية لاستعمال غاز الميثان كمصدر للطاقة .

ونظرا لان غاز الميثان هو المستهدف من الانتاج البيولوجي فيطلق عليها الآن عملية انتاج البيوميثان Biomethane production, Biomethanation, methanogenesis .

طاقة الميثان :

عند حرق غاز الميثان مع الاكسجين يحدث التفاعل التالي :

$$CH_4 + 2\ O_2 \longrightarrow CO_2 + 2\ H_2O$$

وبذلك تنطلق الطاقة في صورة حرارة وذلك من كمية الطاقة الفائضة عن التغير في الروابط الكيميائية بالوقود المؤكسد ($CH_4 + O_2$) الى غازات ناتجة ($CO_2 + H_2O$)، علما بأن الطاقة الكلية للغازات الناتجة (CO_2, H_2O) تكون أقل من تلك الموجودة بالوقود المؤكسد (CH_4, O_2) قبل الاحتراق ، حيث أن جزءا من هذه الطاقة ينطلق كحرارة وضوء داخل اللهب نفسه .

من حيث كمية الحرارة الناتجة فأنه عند مقارنة غاز الميثان بالغاز الطبيعي (المتكون مع البترول والفحم) فاننا نلاحظ أن :

الغاز الطبيعي	يعطي	١٠٫٠٠٠ كيلو كالوري / م٣
غاز الميثان	يعطي	٨٫٠٠٠ كيلو كالوري / م٣

أي أن كمية الحرارة الناتجة من غاز الميثان تقارب تلك الناتجة من الغاز الطبيعي ، كما اننا نلاحظ أن :

١ كجم وزن جاف من المادة العضوية ⟵ (بالحريق + الاكسوجين) ٤٥٠٠ كجم كالوري

⟵ (بالتخمر لا هوائي) ٠٫٥ م٣ بيوجاز ⟵ ٣٠٠٠ كجم كالوري

ورغم أن كمية الحرارة المنتجة بالتخمر اللا هوائي من وحدة وزن جاف مادة عضوية أقل من تلك الناتجة بالحريق (١ : ١٫٥) ، الا أن ما يتبقى من بقايا التخمر من سوائل ومخلفات صلبة ذات أهمية كبيرة حيث تستعمل كأسمدة عضوية .

الاهمية الاقتصادية للبيوجاز :

يستعمل الغاز الناتج في أغراض عديدة منها :

١) التدفئة والانارة والطهي وتوليد الكهرباء ... الخ ، أي كبديل لمصادر الطاقة التقليدية .

٢) انتاج البروتين الميكروبي ، وذلك باستعمال الغاز لتنمية بعض الميكروبات مثل *Pseudomonas methanitrificans* ، فهذا الميكروب يستعمل الميثان .

كمصدر وحيد للكربون ، كما أنه يقوم بتثبيت أزوت الهواء الجوى ، وقد وجد أنه عند تخمير طن من زرق الدجاج تحت ظروف لاهوائية ، وامرار الغازات الناتجة فى بيئة خالية من الكربون والنتروجين وملقحة بالميكروب السابق ومحضنة على درجة ٣٠°م لمدة اسبوعين فأنه نتج ١٧٫٢٨ كم من الخلايا البكتيرية الجافة التى تحتوى ١٫٨٥ كجم بروتين خام .

وبالاضافة الى استعمال الغاز كمصدر للطاقة أو لانتاج البروتين فأن من فوائد تخمير المخلفات للحصول على البيوجاز مايلى :

١) استعمال بقايا التخمير Digested slurry :

أ) فالمخلفات الصلبة sludge تستعمل كسماد عضوى للاراضى ، فهى سماد غنى بما تحتويه من كميات كبيرة من النتروجين (حوالى ٢ ٪) والفوسفات والبوتاسيوم ومعظم العناصر النادرة .

ب) أما السوائل الناتجة Effluent فتستعمل فى رى المزروعات وتسميدها كما يمكن استعمالها فى تنمية الطحالب الخضراء عليها مثل طحلب الكوريللا *Chlorella ellipsoides* الذى يستعمل لتغذية الاسماك أو كمصدر جيد للبروتين فى العلائق أو فى انتاج البيوجاز .

٢) التخلص من المخلفات الآدمية والحيوانية خاصة فى الريف مما يؤدى الى رفع المستوى الصحى بالتخلص من التلوث الميكروبى والحد من انتشار الذباب والبعوض .

٣) توفير غاز قابل للاشتعال فى الارياف بدلا للاحطاب والمخلفات النباتية التى يمكن استخدامها كسماد عضوى .

جدول رقم (١٧-١) : سماد عضوى ناتج من تخمير ١٠٠٠ كجم مخلفات ابقار Cow dung (نسبة ن٢ ٠٫٢٥ ٪) .

	سماد عضوى	
	ناتج بالطريقة التقليدية	ناتج من مخمر غازى
مقدار الفقد بالتحلل فى المادة العضوية	٥٠٠ كجيم	٢٧٠ كجم
مقدار الفقد بالتحلل فى النتروجين	١٫٢٥ كجم	صفر
النسبة المئوية للنتروجين فى الناتج النهائى (وزن جاف)	١٫٠٠ ٪	١٫٥ ٪
كمية الغاز الناتجة	صفر	٢٠٠٠ قدم/مكعب

ويتميز السماد العضوى الناتج من بقايا التخمير ، من السماد العضوى المصنع بالطريقة التقليدية ، فى أن الفقد فى المادة العضوية والنتروجين يقل بدرجة ملحوظة مما يزيد من قيمته كسماد ، ويتضح ذلك من الجدول رقم (١٧ - ١) .

الكائنات الممرضة بالمخلفات :

تقع الكائنات الممرضة التى توجد بالمخلفات البرازية الآدمية والحيوانية فى اربع مجاميع رئيسية :

1. Viruses as Poliomylitis, Hepatitis, Gastroentetis
2. Bacteria as Salmonella, Shigella, Cholera, TB,
   Enteritis Leptospirosis.
3. Protozoa as Amoebic dysentry.
4. Helminths as Round, Pin, Tape, Hook worms.
   Liver fluke & Bilhariziazis.

وفى عملية تخمير هذه المخلفات عند درجة ٣٥°م لمدة اسبوعين لانتاج الغاز ، فـــان نسبة كبيرة (أكثر من ٩٠ ٪) من هذه الكائنات الممرضة يموت ، خاصة الميكروبات المعوية المرضية ، غير أنه لوحظ ان بعض الكائنات الممرضة خاصة بويضات ديدان الاســـكارس (round worms) تعتبر شديدة المقاومة وتبقى حية بعد عملية التخمير . وفى مثـــل هذه الظروف فانه ينصح قبل وضع المخلفات بالهاضم لانتاج البيوجاز ، بعمـــــل Pre composting تحت ظروف لا هوائية لمدة ٣ - ٤ أيام لهـذه المخلفات ، للتخلص مما بها من كائنات ممرضة .

تكون الغاز بيولوجيا Methanogenesis :

تتم عملية انتاج غاز الميثان بيولوجيا من المخلفات العضوية نتيجة لتعايش مجموعة كبـــيرة من الميكروبات . وتبدأ الخطوات الاولى من تحلل المخلفات العضوية هوائيا ، ثم باستمــرار عملية التحلل يقل الاكسجين تدريجيا حتى تسود فى النهاية الظروف اللاهوائية التى تهـــيئ الظروف لتكوين غاز الميثان . وبذلك فان دور الفطريات فى هذه العمليات محدود جـــدا لظروف التخمير اللاهوائية غير المناسبة لها .

وتتم عملية تحلل المواد العضوية ميكروبيا بالمراحل الرئيسية التالية :

١ - **المرحلة الاولى :** مرحلة تكون الاحماض The acid forming stage

فى هذه المرحلة تنشط البكتريا المترممة العضوية والكروية مثل : *B. cereus*, *B. megatherium*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*

وتحلل المواد العضوية المعقدة الى مواد ابسط منها ، لتنتج فى النهاية احماضا عضوية

دهنية قصيرة السلسلة مثل : الفورميك ، الخليك ، البروبيونيك ، البيوتيريك ، اللاكتيك ،
وكحولات بسيطة مثل : الميثانول ، الايثانول ، البروبانول ، الايسوبروبانول ، البنتانول.
وغازات مثل : CO_2, H_2, NH_3, H_2S .

1. Organic compounds { Carbohydrates, Proteins, Fats } ⟶ { Sugars, Amino acids, Fatty acids, glycerol }

{ Sugars, Amino acids, Fats } —Acid producing bacteria (Anaerobes)⟶ Fatty acids + Alcohols + CO_2 + H_2

٢ - المرحلة الثانية : مرحلة تكوين حمض الخليك والايدروجين بواسطـــة
The H_2 producing acetogenic bacteria
فى هذه المرحلة تقوم البكتريا بتحليل الاحماض الدهنية المتكونة فى المرحلة رقم ١ ، وتحويلها الى حامض خليك وايدروجين

2. Fatty acids —H_2 producing acetogens⟶ Acetate + CO_2 + H_2

٣ - المرحلة الثالثة : مرحلة تكوين الميثان بواسطة Methanogenic bacteria
فى هذه المرحلة تنشط بكتريا الميثان وتستعمل نواتج تحلل المرحلة ١ ، ٢ وتكـــون غاز الميثان .

3. { Fatty acids, Alcohols, Acetate, CO_2, H_2 } —Methanogenic bacteria⟶ CH_4+CO_2

٤ - بالاضافة الى انتاج غاز الميثان فى المرحلة الثالثة ، فقد أضيفت مرحلة رابعة ، تقـــوم فيها البكتريا ذاتية التخمر Homoacetogenic bacteria بتمثيل الخلات وتكوين الميثان .

4. Acetate —Homoacetogenic bacteria⟶ CH_4 + CO_2

وبصفة عامة فان غاز الميثان ينتج من اختزال مجموعة الميثيل أو من اختزال CO_2 فـــى وجود المادة العضوية (مصدر الايدروجين) ، وهذا مماثل لما يحدث تحت الظـــروف اللاهوائية فى الاراضى الغدقة .

$$CH_3\text{-}COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$
$$2\ CH_3\text{-}CH_2OH \longrightarrow 3CH_4 + CO_2$$
$$CO_2 + 4\ H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$

ومن حيث الكربون الممثل ، فلو فرض استخدام ١٠٠ وحدة كربون للتخمير اللاهوائي بواسطة بكتريا الميثان ، ففي المتوسط يتحول ٥٠٪ من الكربون الى بيوجاز ، ٥٪ من الكربون يثبت بأجسام الميكروبات ، ٤٥٪ من الكربون يتبقى بمخلفات بقايا التخمير .

النسبة التي تتبقى بأجسام البكترياوهي حوالي ٥٪ ، تعتبر نسبة قليلة اذا ماقورنت بما يحدث في عمليات التخمر الهوائية ، حيث أنه في هذه الحالة ، فان الميكروبات الهوائية تمثل حوالي ٤٠٪ من كربون المادة العضوية في اجسامها .

البكتريا المنتجة لغاز البيوجاز :

ينتج غاز الميثان بواسطة بكتريا عديدة يطلق عليها (Methanogenic bacteria, Methanogens, Methane-formers) ، ذات اشكال مورفولوجية وتراكيب مختلفة ، غير ان لها صفات مزرعية وفسيولوجية متشابهة ، ورغم انها تتبع البروكاريوتا الا انها تختلف في منشئها وتطورها الوراثي (Phylogenetically different) عن البكتريا الحقيقية Eubacteria (Procaryota) وعن كائنات حقيقية النواة Eucaryota كالفطر والنبات والحيوان ، مما يعطي لها صفات مميزة لدرجة انها اصبحت توضع تحت قسم خاص يسمى Archaeobacteria (برجي ١٩٨٤) .

تتميز بكتريا الميثان عن غيرها من الميكروبات بانها تحصل على الطاقة اللازمة لها بطريقة تؤدي الى تكوين غاز الميثان (نتيجة لاختزال CO_2 واكسدة الايدروجين) . وهي لا هوائية حتما تنمو عند Eh أقل من -٣٠٠ ملليفولت ، لاتستطيع أن تمثل السكريات البسيطة أو المعقدة كمصدر للكربون ولكنها تستخدم الاحماض الدهنية والكحولات البسيطة ذات السلاسل القصيرة التي تنتج من تخمر المواد العضوية بواسطة الميكروبات الاخرى ، وتمثل الامونيا والكبريتيد كمصادر رئيسية للنتروجين والكبريت ، بعضا منها ، مثل :
Methanobacterium omelianskii, M. formicicum, M. thermo-autotrophicum ، لها القدرة على النمو اوتوتروفيا (CO_2 كمصدر وحيد للكربون) .
يناسبها درجة ٣٠°م ، و pH - ٧ر ، وعمر الجيل لها يومان ، ومن الصعب تنميتها معمليا ، اذ انها تحتاج لعزلها ولنموها لظروف خاصة وبيئات محددة .

عزلت من الاوساط التي تتوفر فيها الشروط اللاهوائية ومواد عضوية متحللة مثل اراضي المحيطات والبحيرات والبرك والمستنقعات ومخمرات مخلفات المجاري ومعدة الحيوانات المجترة .

ونظرا لان البكتريا المنتجة للميثان ذات صفات فسيولوجيا متشابهة ، فقد وضعت حسب تقسيم (Bergy, 1974) في عائلة واحدة هي Methanobacteriaceae تقسم مورفولوجيا الى :

والشكل رقم (١٧-٣) : يوضح التحولات البيولوجية فى دورة ثانى اكسيد الكربون تحت الظروف الهوائية واللا هوائية *

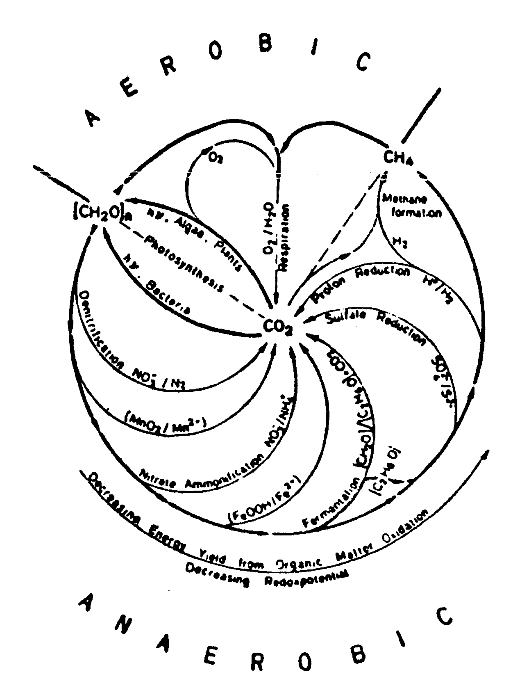


Fig. (17-3): Biological reactions in the Co_2-cycle.

* Zehnder, A.J.B. 1982.
The carbon cycle. In O. Hutzinger (ed.), Handbook of environmental chemistry, Vol. 1/B , 83-110 ,Springer Verlag, Berlin.

١ - بكتريا كروية الشكل كما فى أجناس Methanococcus, Methanosarcina .

٢ - بكتريا عصوية الشكل { متجرثمة مثل جنس Methanobacillus .
أو غير متجرثمة مثل جنس Methanobacterium . }

٣ - بكتريا حلزونية الشكل مثل جنس Methanospirillum .

ماتم بعد ذلك من دراسات (برجى ١٩٨٤) تتعلق بهذه المجموعة من البكتريا من حيث تركيب 16S ribosomal RNA, DNA ، ومصادر الطاقة وخطوات التمثيل الغذائى اللاهوائى والاحتياجات الغذائية والتركيب التشريحى للخلية خاصة جدار الخلية والغشاء السيتوبلازمى ، دفع (balch *et al.* 1979)* لأن يقترح تقسيما جديدا لبكتريا الميثان يحتوى على ثلاث رتب ، أربع عائلات ، ٨ أجناس ، ١٤ نوع كالجدول رقم (١٧ - ٢) .

العوامل المؤثرة على انتاج البيوجاز :-

هناك مجموعة من العوامل التى تؤثر على انتاج البيوجاز ،وهى فى مجموعها عبارة عن العوامل التى تؤثر على نشاط الميكروبات المنتجة لهذا الغاز ،ومن بين تلك العوامل :

١) **درجة الحرارة** : اغلب الميكروبات المنتجة للبيوجاز عبارة عن ميكروبات محبة للحرارة المتوسطة وعلى ذلك فان درجة الحرارة المناسبة للانتاج هى حوالى ٣٠°م .

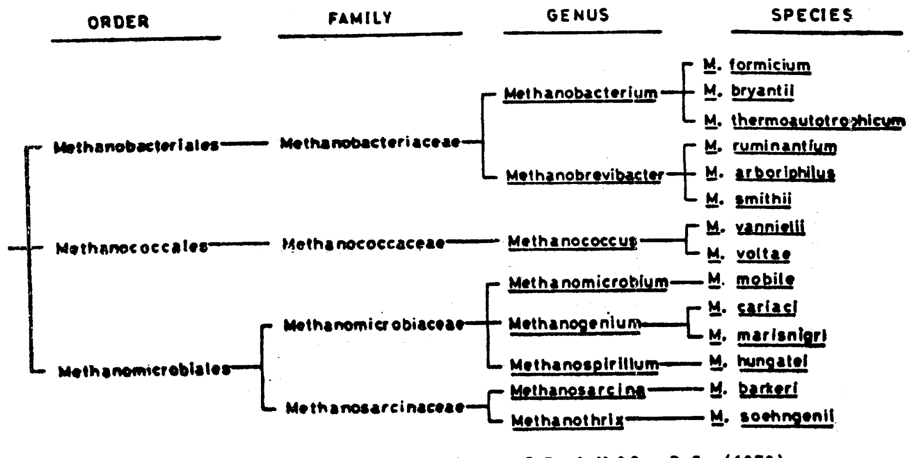
٢) **درجة الحموضة** : ينتج الميثان نتيجة لتعاقب تأثير الميكروبات على المخلفات العضوية ، وفى مرحلة وسطية من التخمر يزداد تراكم الاحماض العضوية وبذلك يصبح الوسط حامضى غير مناسب لبكتريا الميثان . وقد تفشل عملية انتاج الغاز لهذا السبب . لذلك فان عملية توازن مناسبة لتطور الحموضة بالوسط اثناء التخمير (باضافة الجير ان احتاج الامر) تساعد على زيادة كفاءة العملية ،اذ يناسب بكتريا الميثان الوسط المتعادل اى حوالى ٧,٠ pH .

٣) **تراكم الايدروجين** : يتكون H_2 اثناء تخمر المخلفات ، ويدخل فى عملية التخمير وتكوين CH_4 ، غير ان تراكمه ضار جدا بالعملية ، حيث يؤدى الى تكوين كحولات وبذلك يقل انتاج CH_4 ،لذا يجرى اختبار دورى اثناء التخمر لمعالجة الموقف فور حدوث تراكم للهيدروجين .

٤) **تراكم كبريتور الايدروجين** : تراكمه كغاز بالمخمر وزيادته عن ٢٠٠ جزء فى المليون ضار بعملية تكوين غاز الميثان لذا يحول الى املاح كبريتيد . ويعود التأثير الضار لغاز H_2S على عملية تكوين غاز الميثان ، الا أن له تأثير سام على البكتريا المنتجة لغاز الميثان كما أنه يرسب العناصر النادرة مثل الحديد ، النيكل ، الكوبالت ، الموليبدينوم ، وبذلك يحد من استفادة بكتريا الميثان منها .



Table (17-2): Taxonomy of Methanogenic bacteria*.



ORDER	FAMILY	GENUS	SPECIES
Methanobacteriales	Methanobacteriaceae	*Methanobacterium*	*M. formicium*
			M. bryantii
			M. thermoautotrophicum
		Methanobrevibacter	*M. ruminantium*
			M. arboriphilus
			M. smithii
Methanococcales	Methanococcaceae	*Methanococcus*	*M. vannielii*
			M. voltae
Methanomicrobiales	Methanomicrobiaceae	*Methanomicrobium*	*M. mobile*
		Methanogenium	*M. cariaci*
			M. marisnigri
		Methanospirillum	*M. hungatei*
	Methanosarcinaceae	*Methanosarcina*	*M. barkeri*
		Methanothrix	*M. soehngenii*

(*) Balch, W.E.; Fox, G.E.; Magrum, L.J.; Woese, C.R. & Wolfe, R.S. (1979). Methanogenic revolution of a unique biological group. Microbiol. Rev. 43, 260-296.

٥) **غياب الاكسجين** : بكتريا انتاج الميثان لاهوائية حتما ، وهى حساسة لوجود أقل آثار من غاز الاكسجين وتقتلها فورا ، لذلك يلزم توفير وسط خالى من الاكسجين لها O_2-Free phase. تنمى بكتريا الميثان الآن تحت ضغط مرتفع من CO_2, H_2 فى انابيب مقفولة بالالومنيوم Aluminium Seal مثل انابيب المضادات وذلك لتجنب سمية الاكسجين .

٦) **التسمم الامونيومى** Ammonia toxicity : تراكم الامونيا بالهاضم Digester نتيجة لعملية التخمر ، فاذا مازاد تركيزها عن ٢٠٠٠ جزء فى المليون فان هذا يثبط عمل بكتريا الميثان، ويقلل تأثير التسمم الامونيومى بالتحميل المناسب للهاضم والتخفيف المرغوب للخليط وتقصير زمن التخمير .

٧) **التحميل** Loading : مدى ملأ الهاضم بالمخلفات يؤثر على انتاج الغاز ويتحكم فى عملية الملأ سعة الهاضم ، ودرجة تخفيف الخليط بالماء وحرارة وسط التخمير .

٨) **التخفيف** Dilution : كلما زاد تخفيف المخلفات بالماء فى الهاضم كلما تحصلنا على نتائج أفضل ، لان الماء يعمل على طرد الهواء من الهاضم قبل بدء الانتاج كما يساعد على تكاثر الميكروبات وتجانس توزيعها فى الخليط ، وتقليل اللزوجة به . وتختلف نسبة التخفيف حسب نوع المخلفات من واحد مخلفات : واحد ماء ، وقد تزداد حتى تصل الى ١٠ ماء فى بعض الحالات . وفى تجربة لوزارة الزراعة المصرية لانتاج غاز الميثان من تخمر روث الجاموس المضاف له قش ارز واحطاب الذرة والقطن تحت الظروف اللاهوائية وجد أن الظروف المثلى هو توفير درجة حرارة حوالى ٣٠°م ، pH ٧ر- وجعل نسبة المخلفات الى الماء ١ : ٣ .

٩) **اللزوجة** Viscocity : زيادة لزوجة الخليط الجارى تخميره اثناء الانتاج ، بسبب الصموغ والمواد المعقدة المتكونة ، يثبط من نشاط بكتريا الميثان وتمنع تجانس انتشارها بالخليط ، ويقلل من أثر هذا العامل بالتحميل المناسب للهاضم وزيادة تخفيف المخلفات .

١٠) **التقليب** : تزود بعض وحدات الانتاج بمقلبات ، وهذه تساعد على زيادة كفاءة الانتاج نتيجة لجودة تقليب وخلط المكونات والتوزيع المتجانس للميكروبات بالخليط وتكسير الصموغ والرغاوى المتكونة . كما أن تكون أغشية scum فوق سطح المواد المخمرة بالهاضم يمنع انسياب الغاز ، لذا يلزم تكسيرها بين حين وآخر .

١١) **طبيعة المخلفات المضافة** : المواد المستعملة هى المخلفات الادمية والحيوانية والنباتية . وقد امتد المجال الآن لتشمل مخلفات المجارى والمصانع والمصارف والحشائش وغيرها . ويتوقف الانتاج ونسبة الغازات على طبيعة تلك المخلفات وتركيبها .

الكيماوى ونسبة C/N بها . وتعتبر المخلفات ذات نسبة ٣٠ كربون : ١ نتروجين من أنسب المخلفات لعمل البكتريا المنتجة لغاز الميثان . وعموما فأن المواد ذات المحتوى النتروجينى العالى كمخلفات الانسان والطيور تعتبر افضلها ، واذا كانت المخلفات المصاحبة غير غنية فى النتروجين والفوسفور فانه يلزم اضافة هذه المواد بكميات مناسبة للخليط . وكلما زادت نسبة اللجنين بالمخلفات المستعملة كلما ازدادت صعوبة عملية التخمير وطالت مدتها ، كما فى حالة استعمال حطب القطن. وفى هذه الحالة فانه ينصح بعمل Precomposting لمثل هذه المخلفات قبل وضعها فى الهاضم لانتاج البيوجاز .

وتضاف المخلفات الى الهاضم بطريقة متقطعة Batches أو مستمرة Continuous وذلك حسب طريقة التخمير المستعملة ويتم سحب البقايا من اسفل الوحدة .

١٢) **مدة التخمير :** تتوقف على العوامل السابقة وقد تصل الى اسبوعين أو أكثر .

عملية الانتاج :

تقام وحدة انتاج البيوجاز قرب اماكن توفر المخلفات العضوية ومصدر الماء وقرب أماكن استخدام الغاز الناتج ، وتكون الوحدة من :

١) الهاضم Digester وهو الجزء الاساسى بالوحدة وفيه توضع المخلفات وتتم عملية التخمير ميكروبيا لانتاج البيوجاز .

٢) مخزن تجميع الغازات Gas holder وفيه تجمع الغازات الناتجة من الهاضم ومنه يوجه الغاز الى اماكن الاستعمال .

٣) احواض تجميع وخلط المخاليط .

٤) مجموعة من الانابيب والوصلات Piplines and pipe fittings . وتقام وحدة الانتاج فى مكان مكشوف معرض للشمس بعيدا عن مستوى الماء الارضى (يكون على بعد ٥ متر على الاقل من السطح طول العام) ، وطبيعة ونظام بناء الوحدة يتوقف على ظروف المنطقة المحلية وما يتوفر بها من خامات بناء .

وتقام الوحدة بالقرية لخدمة منزل واحد Family project أو عدة منازل متجاورة والاتجاه الآن لعمل وحدات كبيرة ، بدلا من وحدات منفصلة ، لخدمة القرية Community project أو المنطقة الموجودة بها حتى يستفيد بها كل مواطن فى تلك المنطقة .

الهاضم : Digester

يختلف حجم الهاضم وهو وحدة انتاج البيوجاز باختلاف كمية المخلفات المطلوب تخميرها . فالوحدة ذات الحجم ٢ م^{٣} يلزم لها يوميا ٤٠ كجم من الروث (٢-٣ بقرة) وتنتج ٧٠ قدم^{٣}

من البيوجاز يوميا ، بينما الوحدة التى حجمها ١٠ م٣ يلزم لها ٢٠٠ كجم روث يوميا وتنتج ٣٥٠ قدم٣ من الغاز يوميا .

يوجد نظامان لبناء الهاضم : أ - النظام الهندى . ب - النظام الصينى .

وفى كلا النظامين يبنى الهاضم تحت سطح الارض ، أما مخزن تجميع الغازات فيوجد فوق سطح الارض فى النظام الهندى .

ونظرا لان لكل نظام مميزاته ، فانه يجرب فى مصر كلا النظامين مع محاولة الوصول الى نظام مناسب لظروفنا المحلية . والشكل رقم (١٧-٤) يبين دورة البيوجاز فى الصين .

ويبنى الهاضم فى النظام الهندى تحت سطح الارض فى صورة حجرة اسمنتية اسطوانية بارتفاع ٤٫٥ م وقطر ٢ م (للنوع المعتاد) وبه حاجز طولى يقسم الحجرة الى قسمين لزيادة كفاءة التخمير وبكل قسم انبوبة معدنية واحدة لدخول المخلفات Inlet والاخرى لخروج البقايا بعد الاستعمال Outlet ، وبجوار أو أعلى الهاضم يقام مخزن تجميع الغازات Gas holder . هذا الهاضم يغطى تكاليف انشائه فى ثلاث سنوات ، ويمكن أن يستمر فى العمل لمدة عشر سنوات (شكل رقم ١٧-٥) .

التخمير على مرحلتين : The two phase digester

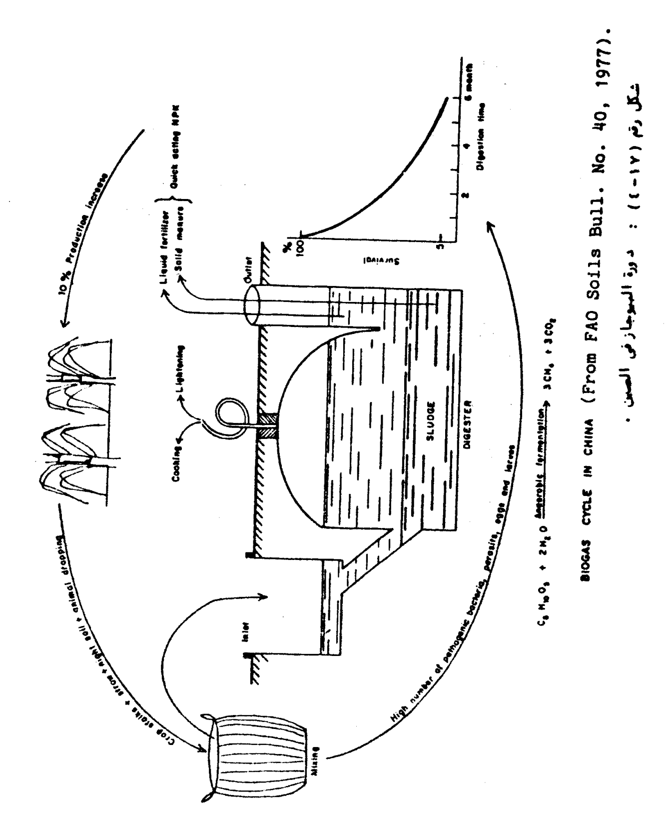
من التعديلات التى أجريت فى مصر على نظام التخمير ، بهدف تحسين انتاج غاز الميثان ، اجراء عملية انتاج البيوجاز فى مخمرين بدلا من مخمر واحد .

وفى هذا النظام تفصل عملية التخمير الخاصة بانتاج المركبات الوسطية ، عن عملية انتاج الميثان الخاصة بتحويل نواتج التخمر الى ميثان ، حيث أن ميكروبات كل عملية لها الظروف البيئة الخاصة بها من ناحية pH, Eh .

ففى المخمر الاول يتم تحلل المخلفات العضوية لتكوين الاحماض والمركبات الوسطية ، ثم تسحب السوائل المتخمرة بطلمبات وتنقل الى المخمر الثانى الخاص بتكوين الغاز .

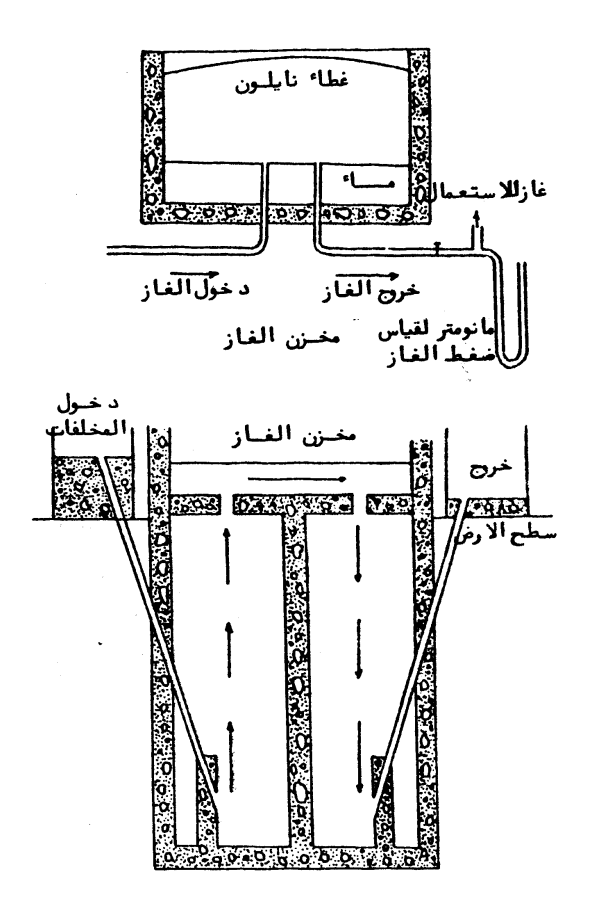
باجراء عملية التخمير على مرحلتين ، فاننا نزيد من كفاءة عملية انتاج غاز البيوجاز وذلك بتوفير الوسط المناسب لبكتريا الميثان فى المخمر الثانى ، حيث تعتبر الحموضة العالية المتكونة فى المخمر الاول من العوامل المثبطة لها . بالاضافة الى ذلك فانه يمكن وضع اطارات فى المخمر الثانى من مادة Rubber foam ٢ × ١ م مقواه بخيوط بلاستيك ، تعتبر كدعامات تستقر عليها بكتريا الميثان لتنمو وتتكاثر .

ومن المقترحات موضع الدراسة الخاصة بتقليل تكاليف انشاء المخمر بالارياف ، هو عمل وحدة التخمير الاولى الخاصة بانتاج الاحماض والمركبات الوسطية أسفل ارضية الاسطبل أو الزريبة ، وعمل وحدة انتاج البيوجاز بالمنزل فوق سطح الارض . وهذه الوحدة المنزلية



BIOGAS CYCLE IN CHINA (From FAO Soils Bull. No. 40, 1977).

شكل رقم (١٧-٤) : دورة البيوجاز فى الصين .



شكل رقم (١٧-٥) : مقطع فى الهاضم ومخزن تجميع الغازات .

(من : علاء الدين وآخرين ١٩٨٣) .

التى تكفى متطلبات الاسرة من الطاقة اللازمة للاضاءة والتسخين والطبخ والتدفئة ، لـــن تزيد تكاليفها للمنزل الواحد عن مائتين جنيه .

كمايقترح استخدام الطاقة الشمسية لتسخين محتويات المخمر خاصة أيام الشـــتاء ، واستخدام طاقة الرياح لتقليب محتوياته .

تشغيل الهاضم :

عند بدء التشغيل ، يملأ الهاضم بمخلوط من الماء والمخلفات ، ثم يتم التوصيـــل بخزان الغاز الذى يمتلىء فى فترة تتراوح من ١٥ - ٢٠ يوم ، ويراعى التخلص من هـــذه الكمية الاولى من الغاز حيث انها تكون مختلطة بالهواء ، وعند اشتعالها تحدث انفجارا ، لذلك يستعمل البيوجاز كوقود عند خلوه من الهواء .

ويلاحظ أن كمية الغاز الناتجة فى فصل الشتاء تقل بدرجة ملحوظة لانخفاض درجـــة الحرارة فى الهاضم وللتغلب على ذلك يستعمل ماء دافىء فى تخفيف المخلفات .

والغاز الناتج من الهاضم هو خليط من الغازات اغلبها الميثان وثانى اكسيد الكربـون مع نسب قليلة من غازات اخرى ، لذلك فأنه يجب العمل على التخلص من الغازات التى تقلل من كفاءة الغازات فمثلا CO_2 يقلل من درجة اشتعال الميثان خاصة ان كانت كميته كبـــيرة وكذلك فأنه اذا زادت نسبة H_2S عن ٢ ٪ فانها تسبب تآكلا لجميع الانابيب المعدنيـــة والمواقد التى تمر عليها علاوة على رائحته الكريهة ، وتأثيره السام على بكتريا الميثان ، وعلى ذلك فأنه بامرار الغازات الناتجة من الهاضم فى ماء جير ثم فى مرشحات تحتوى على اكسـيد الحديديك فانه يتم التخلص من جزء كبير من H_2S, CO_2 .

بعض المصاعب التى تقابل المنتج للبيوجاز : من تلك المصاعب :

١) ارتفاع تكاليف انشاء وحدة الانتاج ، خاصة اذا استعمل لبنائها الخرسانة والطـــوب الاحمر ... الخ .

٢) عدم القدرة على التحكم فى كل ظروف الانتاج من حرارة ، pH ، التخفيف والتحميل، اللزوجة ، تراكم الامونيا ... الخ .

٣) صعوبة عزل وحفظ مزارع بكتريا الميثان وكذلك صعوبة تحضير لقاح من بكتريا الميثان .

تصور انتاج البيوجاز بيوكيمائيا :

Concept of Methane production

من الدراسات البيوكيمائية الخاصة بانتاج المكروبات للميثان وباستعمال الخـــلايا المغسولة Washed cells أو الممزقة Broken cells والانزيمات الخالية من البكتريا Cell free enzyme preparation تمكن Barker, 1956 من وضع التصور

التالى@(الشكل رقم ١٧-٦) لانتاج الميثان ميكروبيا . باختزال CO_2 أو باختـــــزال المركبات العضوية المختلفة .

Fig. (17-6):

$CO_2 + H_2$ —formic dehydrogenase→ H-COOH

H-COOH —THF, ATP→ HCO-THF

HCO-THF —2H→ $OH\text{-}CH_2\text{-}THF$-glycine ($H\text{-}CH<^{NH_2}_{COOH}$)

Serine ($CH_2OH\text{-}CH<^{NH_2}_{COOH}$) —THF*(tetra hydro-folic)→ $OH\text{-}CH_2\text{-}THF$-glycine

$OH\text{-}CH_2\text{-}THF$-glycine —2H (NAD)→ $CH_3\text{-}THF$

$CH_3\text{-}THF$ —CoB_{12}enzyme→ $CH_3\text{-}CoB_{12}$enzyme

$CH_3\text{-}OH$ —CoB_{12}** enzyme→ $CH_3\text{-}CoB_{12}$enzyme

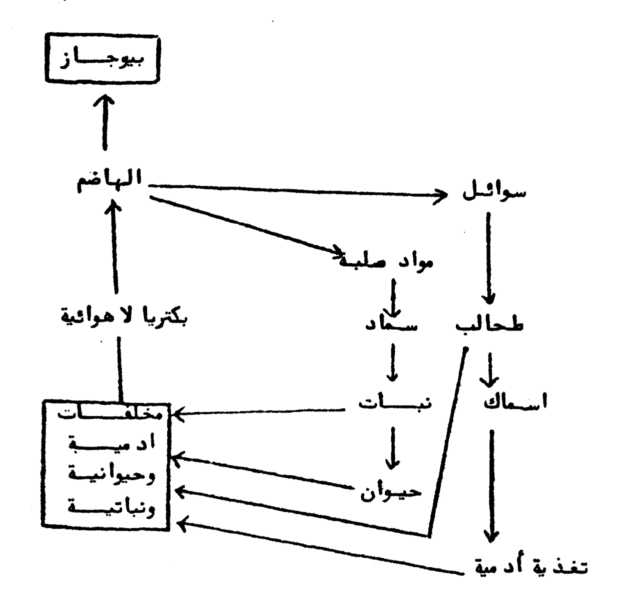
$CH_3\text{-}COOH$

$CH_3\text{-}CoB_{12}$enzyme —2H, ATP→ $CH_4 + CoB_{12}$enzyme

* THF (vit. B group), is a form of folic acid capable of acting as coenzyme in 1-carbon transfer reactions.

** Co vit. B_{12} : necessory for transfer (acceptor and donor) of 1-carbon units.

@ Barker, H.A. (1956). Bacterial fermentations. The biological formation of methane. John Wiley & Sons Inc., New York.



شكل رقم (١٧-٧) : الدورة المتكاملة لاستخدام المخلفات وانتاج البيوجاز
(من : علاء الدين وآخرين ١٩٨٣) .

الفصل الثامن عشر

١٨– الاسمدة العضوية واهميتها

ORGANIC MANURES

الاسمدة العضوية هى ماترجع فى أصلها المباشر الى فضلات الحيوان أو النبات كالسباخ البلدى وسماد المجارى والسبلة وزبل الحمام وسماد الدم المجفف وسماد قمامة المدن ... الخ ، وترجع أهمية الاسمدة العضوية الى أنها تحتوى على مقادير متفاوتة من العناصر الاساسية لتغذية النباتات مثل الازوت والفوسفور والبوتاسيوم علاوة على بعض العناصر الاخرى هذا بالاضافة الى احتوائها على المواد العضوية التى عندما تتحلل وتندمج فى التربة على صورة دوبال يكون لها مزايا وهى :

١) تبنى قوام الارض الرملية وتسبب تماسك الارض الخفيفة وتفكك الثقيلة .
٢) تحتفظ بدفىء التربة للانبات والنمو .
٣) تجعل التربة قادرة على الاحتفاظ بمائها فيمكن اطالة فترات مابين الرى .
٤) تعد مخزنا للاغذية النباتية المدخرة التى تنساب منها شيئا فشيئا على اصلح صورة تلائم المزروعات بانحلالها التدريجى البطىء .
٥) تعتبر مهدا للميكروبات النافعة التى تلعب دورا هاما فى خصوبة التربة .

وتتميز الرقعة الزراعية الحالية بفقر واضح فى محتوياتها العضوية حيث لاتزيد نسبتها عن ٢ ٪ الا فيما ندر ، ويرجع ذلك اساسا الى قلة المخصبات العضوية عندنا مما ترتب عليه تخلفنا عن أقطار كثيرة فى مستوى انتاج بعض المحاصيل على الرغم من التجائنا الى التسميد الكثيف بالاسمدة المعدنية الاصل .

وعموما تقدر احتياجاتنا من المخصبات العضوية بما لايقل عن ٢٢٠ مليون طن لايوجد منها الآن الا نحو ٧٥ مليونا .

والسبيل الى سد احتياجاتنا من هذه المخصبات هو :

١) تحسين السماد البلدى عن طريق العناية بتحضيره وخزنه .
٢) انتاج مايشبه السماد البلدى صناعيا وذلك بتخمير فائض البقايا النباتية كالتبن والاحطاب والقش .
٣) تحويل قمامة المدن الى سماد والانتفاع بمخلفات المجازر من الدم واللحم غير الصالح للاستهلاك الغذائى وكذلك مخلفات المدابغ والاسواق بتحويلها الى اسمدة .
٤) تعميم مشروعات المجارى بالمدن للاستفادة من براز الانسان الغنى بالمواد العضوية والازوت .
٥) استخدام السماد الاخضر ، خاصة فى الاراضى حديثة الاستزراع ، وهذا يعنى حرث المحصول البقولى فى الارض المزروع بها عند فترة الازهار .

٦) استخدام فائض بذرة القطن المقشورة وغير المقشورة وزرق الطيور والدواجن وغير ذلك فضلا عن استخدام الطين والمارج والكفرى وخاصة فى الاراضى الرملية .

وفيما يلى سنتكلم عن السماد البلدى والسماد الصناعى لاتصالهما المباشر بالاعمـــال الزراعية :

السماد البلدى (السباخ) Farm yard manure :

السماد البلدى يعتبر من أهم الاسمدة المستعملة على الرغم من أنه فقير فى تركيبـــه وخصوصا فى المادة العضوية والازوت،حيث يحتوى النوع الجيد على نحو ١٠ ٪ مادة عضويـــة و٥ر٠٪ أزوت كلى،أما ما يحتويه السباخ العادى فدون ذلك فى الغالب وهذا الفقر يرجـــع اساسا الى الاخطاء العديدة الشائعة اثناء تحضيره وخزنه وكذا استعماله .

تركيب السماد البلدى :

يتركب من ثلاثة أجزاء رئيسية وهى الروث والبول والفرشة .

١) الروث Feces :

وهو الجزء غير المهضوم من غذاء الحيوان،ويختلف تركيبه باختلاف نوع الحيـــوان وعمره والعمل الذى يؤديه،وكذلك نوع العلف الذى يتناوله،ومن العوامل المسببة لفقـــر السماد البلدى هو استعمال الفلاح للروث كوقود مما يسبب فقد فى كمية المـــــادة العضوية فى السباخ البلدى،ويلاحظ أن أزوت الروث فى أغلبه غير صالح لتغذيـــة النباتات مباشرة .

٢) البول Urine :

أهم العناصر الموجودة فى البول هى الازوت والبوتاسا وكلاهما صالح لتغذيـــة النباتات مباشرة . وعموما يختلف تركيبه باختلاف الحيوان وعمره والمجهود الـــذى يؤديه .

٣) الفرشة :

وهى توضع تحت البهائم لاراحتها وامتصاص بولها وروثها واضافة القليل مـــن العناصر الغذائية الموجودة بها الى السماد الناتج،والفرشة المعتاد استعمالها هى التراب وقليلا ما يستعمل تبن الفول أو البرسيم أو قش الارز،وعدم اهتمام الزارع باضافـــة الفضلات النباتية الى الفرشة يسبب انحطاط نوع السماد البلدى خصوصا فى مادتـــه العضوية . وعموما تحدث فى مكونات السماد عدة تفاعلات كيماوية بمعاونة الكائنـــات

الحية الدقيقة المختلفة ، ولقد وجد أن محتويات المواد الصلبة من الميكروبات يصل الى خمس وزنها تقريبا (بالعدد ٢٠,٠٠٠ - ٤٠,٠٠٠ مليون / جرام) ، أما المواد السائلة فتحتوى على ١ - ٣ مليون / جرام .

وتقوم المجموعات الميكروبية المختلفة بما يلى :

١) تتعاون البكتريا غير الهوائية والاختيارية من Bacillus, Clostridium مع البكتريا الهوائية مثل Proteus *Pseudomonas flourescens,* وغيرها في تحليل البروتين والمواد الازوتية الاخرى .

٢) *Bacillus pasteurii* وغيرها مثل *Sarcina urea* تحول اليوريا الى امونيا .

٣) تتحلل المواد الكربوهيدراتية ببكتريا حامض البيوتريك والبكتريا المتجرثمة الهوائية ومجموعة القولون وغيرها .

٤) تتحلل المواد البكتينية والسليلوزية بواسطة البكتريا الهوائية وغير الهوائية .

٥) توجد في السماد البكتريا الهوائية وغير الهوائية المثبتة للازوت .

٦) يوجد بالسماد الاكتينوميسيتات والخميرة والفطر .

ينتج عن تحلل المواد الكربوهيدراتية غازات غالبا ك أ$_{٢}$ ، ك يد$_{٤}$ وقليل من الايدروجين ، وكمية هذه الغازات كبيرة (فى المتوسط المتر المكعب ينتج من ١٠ - ١٠٠ متر مكعب من الغاز) مما يؤدى الى ملأ المسافات البينية الموجودة بين جزئيات الكومة ، وهذا يشجع عمل البكتريا غير الهوائية ، بالاضافة الى تقليل تطاير الامونيا وهذا يرجع الى أن كربونات الامونيوم تكون اثبت فى جو من ك أ$_{٢}$ عنها فى الهواء .

وقد قام بعض الباحثون بمحاولات عديدة فى الماضى لتثبيت النشادر وذلك باضافة مواد كيماوية الى السماد سواء فى الزرائب أو فى اكوام التخزين فاستعمل الجبس والسوبر فوسفات وحامض الكبريتيك وحامض الفوسفوريك وشرش اللبن . ولكن هذه المحاولات جميعا كانت محاولات غير اقتصادية وضارة بأقدام المواشى ولذا فانها لا تستعمل .

وعموما فأنه من الملاحظ أنه نتيجة لتحلل المواد العضوية تنتج حرارة فى الكومة ، وعادة فان الكومة المفككة تصل فيها درجة الحرارة الى ٦٥ - ٧٠ °م بينما الكومة المدكوكة التى تحتوى على ٨٠ ٪ ماء لا ترتفع الحرارة فيها الى اعلا من ٤٠ °م .

وتؤدى الحرارة المرتفعة الى فقد كبير فى المواد الهامة من الكومة مما سبب تكوين مواد مشابهة للفحم ذات فائدة قليلة .

نتيجة لتحليل المادة العضوية الآزوتية فى السماد يتكون الامونيا مما يؤدى الى رفع الـ pH الى الجهة القلوية فيساعد على نمو البكتريا وتكاثرها . وبعد ذلك تتأكسد

الامونيا الى ازوتات بفعل البكتريا،وعليه اذا اضيف ماء الى الكومة أو عند سقوط أمطار عليها فان النترات تتسرب الى اسفل الجورة حيث يوجد الوسط اللاهوائى نتيجة لنمو الميكروبات وتكاثرها فتتحول النترات بالتالى الى أزوت مطلق ، وهذا يتسرب الى الجو ، وبالاضافة الى ذلك يفقد كثير من الازوتات على صورة نتروجين مطلق نتيجة لعمليات غير بيولوجية . ويمكن القول عموما بأن ١٥ - ٢٠ ٪ تفقد نتيجة لعملية انطلاق الازوت (بيولوجيا) و ١٥ - ٢٠ ٪ بطرق غير بيولوجية ، هذا ويفقد الفوسفور والبوتاسيوم بتسربهما فى التربة لعدم العناية بانشاء الجورة .

أهم الاحتياطات الواجب مراعاتها عند تحضير سماد بلدى :

١) يراعى ان تكون ارضية الزرائب من مادة لاتنفذ منها السوائل كأن تكون من الاسمنت أو على الاقل تكون مدكوكة دكا جيدا لايسمح لها بتسرب السوائل السمادية الثمينة .

٢) يراعى أن يكون التراب المستعمل كفرشة جافا ناعما خاليا من الاملاح وبكمية كافية لامتصاص جميع البول وسوائل الروث،ومن المفيد جدا ان يخلط هذا التراب (الشرب) بمقدار النصف بقش الارز أو بتبن الفول والبرسيم أو بتبن القمح والشعير الغير صالح للاستهلاك الغذائى وكذا بالاحطاب أو بأوراق وسوق الموز مقطعة قطعا صغيرة بحيث لاتزعج الحيوانات . ولاينصح باستخدام قش الارز وغيره من الفضلات النباتية بمفردها كفرشة ، الا فى حالات الضرورة القصوى لان قدرتها على امتصاص البول أقل من التراب .

٣) ينبغى أن يترك السماد فى الزرائب تحت أرجل المواشى لا طول وقت مستطاع حتى لايتعرض الازوت الى الفقد بالتطاير فى صورة نوشادر ، وهو مايحدث حتما فى حالة اخراج السماد من مكانه كل بضعة ايام .

خزن السماد البلدى :

الغرض منه الاحتفاظ به لحين الحاجة الى استعماله مع المحافظة على عناصره السمادية الى أقصى حد مستطاع،ويلاحظ أن تعريضه للمؤثرات الجوية (الشمس والرياح) تؤدى الى سرعة تأكسد مادته العضوية وضياع الازوت منه على صور مختلفة أهمها النشادر .

وفيما يلى ما يجب أن يتبع فى خزن السماد :

١) يختار الموقع المناسب للتخزين بحيث يكون قريبا من الزرائب مع تجنب الارض الواطئة وتدك ارضيته جيدا .

٢) يقطع السماد من الزرائب وينقل الى الموقع مع تجنب نشره على حالة طبقات رقيقة بل تكوم القطعة الواحدة بارتفاع لايقل عن ٢ متر ، وهكذا حتى يتم انشاء كومة مناسبة تتلوها كومات اخرى بنفس الكيفية .

٣) يراعى حماية الكومات من الحرارة والامطار والرياح بأكياس من الخيش السميك أو القش أو بتعريشه مع ترطيبه بالماء من آن لآخر وخاصة فى أشهر الحرارة الشديدة .

استعمال السماد البلدى :

أمثل طريقة لاستعمال السماد البلدى هو أن ينثر على الارض ثم يحرث فيها مباشرة، أما تكويمه فى كومات مبعثرة بالحقل أو نثره على الارض وتركه مدة طويلة قبل الحرث معرضا للشمس والهواء يعتبر خطأ كبيرا ينبغى تجنبه .

السماد العضوى الصناعى

COMPOST

السماد العضوى الصناعى هو الذى يمكن الحصول عليه من تخمير الفضلات النباتيـــة كقش الارز والتبن والعروش والاحطاب وغيرها .

وتصنيع الفضلات لانتاج اسمدة عضوية لها اهمية كبيرة نظرا لفقر الاراضى المصرية فــى المادة العضوية . هذا والاسمدة العضوية الصناعية تفضل السباخ البلدى فى القيمـــة السمادية من حيث مقدار المادة العضوية والازوت،فيستطيع الزارع أن يستعمل مترا مكعبا مثلا من هذا السماد بدلا من مترين مكعبين من السباخ الجيد ، بالاضافة الى أن الاسمـــدة العضوية الصناعية ليست لها رائحة كريهة كما هو الحال فى السماد البلدى . والجدول رقم (١٨-١) يوضح نتائج التحليل لسماد عضوى صناعى وسماد بلدى عادى (من العجالة رقم ١٠٥ اصدار قسم الكيمياء بوزارة الزراعة - ١٩٥٦) .

جدول رقم (١٨-١) .

نوع السماد	رطوبة %	ازوت كلى محسوب على المادة الجافة %	مادة عضوية (فقد) بالحرق %	عمر السماد	ملاحظات
سماد عضوى صناعى	٣٩ر٣٦	ر٥	٣٠ر٦	٣ شهر	قش ارز + سيناميد جير
سماد بلدى	٨ر٠٥	ر٢٦	٩ر١	سنة	مشترى من صغار الزراع

ويجدر بنا هنا الى أن نشير الى الذين طرقوا هذا الموضوع من الباحثين وهم :
*Hutchinson & Richard (١٩٢١) و *Waksman, Tenney & Diehm (١٩٢٩) . وعنهم عرفت القواعد الرئيسية لتحويل تلك المخلفات الى اسمدة عضويـــة صناعية وتوجد الآن عدة طرق لتحويل المخلفات النباتية والحيوانية الى اسمدة عضويـــة ذكرها بالتفصيل محمد ابو الفضل (١٩٦٠) .

المخلفات الزراعية التى تستعمل لعمل السماد العضوى الصناعى عادة تحتوى علــى النسب الآتية :

---

* c.a. Waksman, 1952.

كربوايدرات ذائبة	٤١ ٪
أليــاف	٣٧ ٪
نتروجــين	٣ر٠ ٪

أى أن نسبة ك/ن فيها تكون حوالى ٢٠٠/١، لهذا فالتحلل الطبيعى لهذه المواد فى الجو يكون بطيئا لقلة كمية الازوت، ولاسراع هذا التحلل يجب اضافة املاح النتروجين وذلك لكى ترتفع النسبة من ٣ر٠ ٪ الى ٢ر١ ٪، وتستعمل عادة املاح الامونيوم ولاتستعمل املاح النترات حيث انها تفقد بسرعة نتيجة لعملية انطلاق الازوت .

واساس التخمير هو جعل " فضله أو مخلفة الحقل " مرتفعة الرطوبة مع وجود الهواء فى أغلب الوقت ، مع توفير الازوت والفوسفور اللازمين لتغذية وتنشيط الكائنات الحية الدقيقة التى تقوم بعملية التخمير ، على أن يكون الوسط متعادلا أو مائلا للقلوية فتكون النتيجة تفاعلات سريعة مصحوبة بارتفاع فى درجة الحرارة التى تساعد على زيادة التحلل، ويجب أن تعدل الرطوبة بحيث تكون ٧٥-٨٠ ٪ والزيادة عن هذه النسبة غير مفيدة، لان الوسط سيكون لاهوائيا مما يؤدى الى تأخير تحلل المواد العضوية وتجمع مواد كمادة طيارة قد تشتعل بمجرد تعرضها للهواء الجوى فتحرق الكومة، والظروف التى تساعد على الارتفاع التلقائى فى حرارة الكومة هو عدم تسرب الحرارة الناتجة من التفاعلات البيولوجية بها وعدم دخول الاكسوجين الى داخلها وكذلك عدم كفايته للتحلل (عدم التحلل الكامل للمادة العضوية)، كما أن عدم وجود رطوبة كافية يمنع امتصاص هذه الحرارة المتولدة، هذا بالاضافة الى أن الارتفاع فى درجة الحرارة يتسبب فى فقد كثير من المواد العضوية مثل الدهون والسكريات والهميسليلوز .

أما اذا كانت نسبة الماء قليلة فأن كمية كبيرة من النتروجين تفقد وهذا يقلل من قيمة السماد الناتج ، ويعالج ذلك بالرش بالماء .

فى المراحل الاولى من تصنيع السماد العضوى تكون الميكروبات الهوائية مثل الاكتينوميستس والبكتريا والسيتوفاجا والفطر نشيطة، ونتيجة للتحلل تختفى المواد السليلوزية أما المواد الهيميسليلوزية والدهنية فأنها تتحلل الى درجة كبيرة، ويكون النتيجة لذلك زيادة نسبة اللجنين الصعب التحلل وزيادة نسبة البروتين نظرا لنمو البكتريا وتكاثرها وكذا يلاحظ زيادة الرماد . فى أثناء عملية التخمر ترتفع درجة حرارة الكومة وقد تصل الى ٦٥ - ٨٠° م (وتخفض بالرش بالماء)، لذا نجد أن الميكروبات المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic bacteria تلعب دورا هاما فى تحلل السليلوز على الاخص فى المراحل الاخيرة عند ما تصل الكومة الى درجة الحرارة المثلى لهذه الميكروبات (حوالى ٦٠°م)، ومن هذه الانواع الثرموفيلية من البكتريا والارستربتوميس :

Streptomyces melanospora, S. thermophilus, S. melanocyclys, Clostridium thermocellum.

وعموما تستفيد النباتات اصلا من البروتين الميكروبى بعد موت البكتريا وتحللها وبذلك ترتفع نسبة النتروجين من ٢ر١ ٪ الى ٢ ٪ .

خطوات عمل السماد :

١) تختار المساحة المخصصة للكومات بالقرب من ترعة أو مورد سهل للماء العذب لتسهيل عمليات الرش مع تجنب الارض الواطئة تجنبا للنشع ، ثم تدك جيدا وتحفر حولها قناة بعرض ٢٠ سم وعمق ١٠ سم للاحتفاظ بالسوائل التى ترشح .

٢) يحضر المخلوط الكيماوى المحتوى على الازوت والفوسفور وكربونات الجير اللازم لكمية المادة المراد تحويلها الى سماد .

والجدول رقم (١٨-٢) موضح به انواع مخلفات الحقل والمخلوط الكيماوى المستعمل (عن العجالة ١١١، وزارة الزراعة عام ١٩٥٦) .

كما هو ملاحظ من الجدول رقم (١٨-٢) فان كمية الازوت والفوسفات على صورة سلفات نشادر وسوبر فوسفات تتزايد بازدياد المركبات الخشبية فى المواد المراد تحويلها الى سماد، كما تتزايد كربونات الجير الناعم بازدياد مقادير سلفات النشادر وذلك لمعادلة تأثيرها الحامضى وتأثير ما يتكون من أحماض أثناء التحول . يقلب المخلوط جيدا ويقسم الى عشرة اجزاء متساوية بقدر الامكان .

٣) يفرش على المساحة ١/١٠ كمية المادة (مخلفة الحقل) على هيئة طبقة ارتفاعها من ٤٠ - ٥٠ سم، والجدول رقم (١٨-٣) يبين كميات " مخلفة الحقل " والماء والمساحة اللازمة (العجالة ١١١، وزارة الزراعة) .

٤) يرش على هذه الطبقة بالتساوى ١/١٠ كمية الماء اللازم فى اثناء العمل مع دوس العمال عليها بالاقدام اثناء الرش لتبلل جيدا، ثم ينشر عليها بالتساوى ايضا ١/١٠ المخلوط الكيماوى ، وبهذا تتم الطبقة الاولى من الكومة .

٥) يفرش الـ ١/١٠ الثانى من المادة (مخلفة الحقل) على حسب الارتفاع السابق ذكره ثم يرش عليها ١/١٠ الماء يتبعه ١/١٠ المخلوط وبهذا تتم الطبقة الثانية .

جدول رقم (١٨-٢) : أنواع مخلفات الحقل والمخلوط الكيماوى المستعمل .

المادة (مخلفة الحقـــــل)	الطن الواحد يحتاج من المخلـــوط الكيمـــاوى الـــى :
قش الارز والحشائش الخضــــراء ، ورق الشجر وورق الخضروات	١٥ كجم سلفات نشادر + ٣ كجم سوبر فوسفات + ١٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تـــراب
تبن البرسيم والحلبة والفول والقمح والشعير	٢٠ كجم سلفات نشادر + ٤ كجم سوبر فوسفات + ٢٠ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تـــراب
عروش الفاصوليا والبطيخ والبطاطـــا والقلقاس وقش القصب وعروش اللوبيـــا والفول السوداني والطماطم	٢٥ كجم سلفات نشادر + ٥ كجم سوبر فوسفات + ٢٥ كجم كربونات جير ناعم . + ١٠٠ كجم تـــراب
حطب الذرة وسوق الموز	٣٠ كجم سلفات نشادر + ٦ كجم سوبر فوسفات + ٣٠ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تـــراب
حطب القطن وبقايا تقليم الاشجار وصاصة القصب وساس الكتان	٣٥ كجم سلفات نشادر + ٧ كجم سوبر فوسفات + ٣٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تـــراب

٦) يستمر العمل هكذا حتى تتم الطبقات العشر ، وتغطى طبقة المخلوط الكيماوى الاخير بقليل من المادة " مخلفة الحقل " .

٧) ترش الكومة بعد ذلك بالماء بالكميات المذكورة بالجدول (١٨-٣) ، وفى المواعيـد المبينة .

جدول رقم (١٨-٣) :

مخلفة الحقل طن	المساحة اللازمة	الماء اللازم بالصفيحة فى أثناء العمل
١	٦ متر مربع (٢ × ٣ متر)	٦٠ صفيحة كاملة فى أثناء العمل ومثلها بعد اسبوع ومثلها بعد اسبوع ثان ومثلها بعد اسبوع ثالث .
٥	٣٠ متر مربع (٥ × ٦ متر)	تضرب الارقام أعلاه فى × ٥
١٠	٦٠ متر مربع (٥ر٧ × ٨ متر)	تضرب الارقام اعلاه × ١٠
٢٠	١٢٠ متر مربع (١٠ × ١٢ متر)	تضرب الارقام اعلاه × ٢٠

٨) بعد انتهاء اضافة هذه الكميات الكبيرة ترش الكومة بالماء كلما لزم الامر حسب الاحوال الجوية - بحيث اذا اخذت قبضة من الكومة على عمق ٢٠ سم تقريبا من مواضع متعددة وضغطت باليد جيدا رطبت اليد فقط أى يجب الا يكون السماد جافا والا يكون مشبعا بالماء لدرجة تساقطه منه بالضغط . ودرجة الرطوبة هذه ضرورية جدا لنجاح العملية ويجب المحافظة عليها حتى ينتهى نضج السماد .

٩) بعد شهر ونصف من بناء الكومة تقلب جيدا مع اعادة تكويمها كما كانت واندوس عليها بالاقدام ، وهذه العملية هامة لتصبح جميع اجزاء الكومة متجانسة وتنشيط عملية التحلل المطلوبة .

١٠) يكرر هذا التقليب مرة ثانية بنفس الطريقة بعد شهر ثم مرة ثالثة اذا لزم الامر بعد نصف شهر .

وعموما تنضج الفضلات النباتية المعاملة بهذه الطريقة فى فترات تتراوح بين ثلاثة وخمسة أشهر حسب اختلاف نسبة المواد الخشبية بهذه الفضلات .

ويمكن خزن السماد الناتج الى حين الحاجة اليه بجمع الكومة فى حيز اصغر وكبسها جيدا مع حمايتها بقدر الامكان من حرارة الشمس والرياح بتغطيتها بالخيش أو القش أو أى طريقة اخرى مع مداومة ترطيبها بالماء ، ويعطى الطن الواحد من الفضلات نحو ٥ر٢ م٣ من السماد .

أهم الاحتياطات الواجب مراعاتها في عمل الاسمدة العضوية الصناعية :

١) أن تكون الفضلات النباتية المستخدمة عديمة القيمة أو لا يسهل بيعها بثمن مجزى مثل قش الارز ومتخلفات الاجران والاتبان التالفة ، وأغلفة الذرة الشامية وسوقها وكـــــذا احطاب القطن ان امكن تكسيرها ، وأوراق وزعازيع القصب وعروش النباتات والخضروا ت واوراق وسوق الموز .

٢) يراعى عند استخدام مواد طرية كورق وسوق الموز أن يؤخذ نحو ٥ر١ طن لكل ٦ متر مربع (مساحة) بدلا من كل طن مادة جافة (جدول رقم ١٨-٣) ، هذا مع تقليل كمية الماء التي تعطى اثناء العمل فقط ، اما مقادير الماء التي تعطى بعد العمل فتبقى كما بالجدول رقم (١٨-٣) .

٣) من المستحسن افراد قطعة ارض خاصة مناسبة لكل حقل (في الزراعات الكبيرة) لعمل اكوام السماد من مخلفات الغيط نفسها وبذلك تقل نفقات النقل .

٤) يراعى أنه كلما كانت المادة المراد تحويلها مقطعة قطعا صغيرة كان تحللها اسرع ، وهذا يكـــــون ضرورة لازمة في حالة استعمال المواد الخشبية كحطب القطن والـذرة اما سوق الموز فيجب ان تقطع بالفؤوس قدر الامكان .

٥) اذا تيسر رش الماء على الكومات بالخرطوم الآخذ من طلمبة ماصة كابسة كان ذلك احســن واتم لضمان توزيع الماء توزيعا متساويا مع خفض التكاليف .

٦) سماد سلفات النشادر هو انسب الاسمدة الازوتية الموجودة في السوق لهذه العملية ، فاذا تعذر الحصول عليه يمكن استعمال سماد نتروسلفات النشادر وان لم يوجد يستعمل نترات الجير مع مراعاة اختلاف نسبة الازوت في هذه الاسمدة .

٧) احيانا قد تلقح الكومة بتراب من تربة خصبة وذلك لكى تقوم الميكروبات بسرعة تحليـــــل الكومة .

٨) عند احتواء السماد على نسبة عالية من الرطوبة يمكن عند استعماله خلطه بالـــــتراب ليسهل نثره على الارض بالتساوى .

٩) يمكن في حالة عدم الحاجة السريعة الى سماد صناعي مع وفرة السباخ البلدى بالمزرعة ان توضع طبقة من الفضلات النباتية على المساحة المناسبة (٣ × ١٠ متر مثلا) بسمك ٥ سم مع رشها بالماء الى درجة البلل ، ثم تنشر عليهما كمية من السباخ البلـــــدى بسمك ٢٠ سم وتوضع بعد ذلك طبقات اخرى وتعامل بنفس الكيفية بحيث لا يزيد ارتفاع الكومة في النهاية عن ٢ متر بأى حال من الاحوال ، ثم ترش الكومة بالكميات المناســـبة من الماء بين آن وآخر لتحتفظ الفضلات برطوبتها .

GREEN MANURES الاسمدة الخضراء

الاسمدة الخضراء هى محاصيل تزرع بالتربة ليس بغرض الاستعمال الآدمى أو الحيوانى ، ولكن لتقلب بالارض وهى خضراء لزيادة محتوى التربة من المادة العضوية ولتحسين خواصها .

وكان هذا الاجراء متبعا بشكل تقليدى فى مصر حتى بداية الستينات ، ولكن نظرا للازدياد الرهيب فى عدد السكان ، ونقص الاراضى الزراعية بسبب اعمال المبانى ، وضيق المساحة ، وشدة الطلب على الانتاج الزراعى ، فان التسميد الاخضر كمعاملة زراعية اندثر تماما ، وبالنسبة للمزارع فان زراعة الارض بالسماد الاخضر يؤدى الى شغلها لموسم زراعى دون عائد مادى أو غذائى سريع له .

غير أن التسميد الاخضر يستخدم الآن فى الاراضى الصحراوية تحت الاصلاح كما فى مشروع الصالحية شرق الدلتا وفى مشاريع الاصلاح غرب الدلتا ، فبعد أن تتم عملية غسيل الارض مما بها من املاح بالرى عدة مرات ، تزرع الارض لاول مرة بالشعير شتاء أو بلوبيا العلف صيفا ثم يقلب المحصول بالارض، حيث تدخل فى دورة الاستزراع حسب الدورة المناسبة مع اضافة الاسمدة العضوية اثناء التربة بالاضافة الى تسميد المحصول المنزرع بالاسمدة الكيماوية .

عموما يتم تسميد التربة بالاسمدة الخضراء بزراعة نبات ما وتركه لينمو الى حد معين ثم يحرث فى الارض وهو اخضر . وعادة تستعمل النباتات البقولية وبعض النباتات غير البقولية لهذا الغرض . وفى مصر كان يتم ذلك بقلب البرسيم (برسيم قلب) فى التربة الزراعية قبل زراعة القطن، وعلى العموم فاختيار النبات المراد التسميد به يتوقف على عدة عوامل اهمها طبيعة التربة والمناخ والدورة الزراعية ونوع التربة وغيرها . ويلاحظ عادة عند اختيار النباتات المراد التسميد بها أن تكون ذات نسبة عالية من النتروجين والاملاح القابلة للذوبان وتحتوى على نسبة بسيطة من السليلوز واللجنين .

وعند حرث النباتات الصغيرة فى التربة بقصد استعمالها كأسمدة خضراء فأن كثيرا من النتروجين يفقد من التربة على هيئة أمونيا ، وهذه الخسارة أو الفقد تعتمد على كمية النتروجين الكلية الموجودة بانسجة النبات ، ومن المعروف أن النباتات الصغيرة السن تحتوى على نسبة منخفضة من السليلوز واللجنين ، ولكنها تحتوى على نسبة عالية من النتروجين والاملاح القابلة للذوبان فى الماء ، وعلى ذلك فهذه النباتات تتحلل بسرعة عن النباتات الناضجة وتترك كمية بسيطة من المواد العضوية فى التربة على هيئة دوبال مخترنا معه ايضا كمية بسيطة من النتروجين، اما عند استعمال النباتات الناضجة (اكبر سنا) فانها تتحلل ببطء وتترك كمية كبيرة من الدوبال لاحتوائها على نسبة عالية من اللجنين والسليلوز ، وينشأ عن ذلك التحلل البطىء كميات محدودة من الغذاء المناسب لتغذية

النباتات التى تتكون باستمرار طالما كان التحلل سائرا فى طريقه ، وبذلك لا يحصل الفقد خصوصا فى النتروجين وغيره من العناصر الهامة فى تغذية النبات كالذى يحدث لو استعملت نباتات صغيرة كاسمدة خضراء، وعلى ذلك يمكن القول أن عمر النباتات المستعملة كأسمدة خضراء تلعب دورا هاما فى امداد التربة بالعناصر اللازمة لنمو النباتات وكمية الدوبال الذى يعتبر مخزنا لهذه العناصر .

وعموما التسميد بالاسمدة الخضراء يفيد كل من التربة والنباتات على النحو التالى :

١) زيادة النتروجين الكلى والنتروجين القابل للتمثيل فى التربة الزراعية وتستعمل عادة النباتات البقولية للتسميد لتحقيق هذا الغرض .

٢) الاحتفاظ بالمواد الغذائية الصالحة للنبات خصوصا النترات من تسربها خلال التربة الزراعية وذلك اثناء الفصل الذى تترك فيه التربة بدون زراعة .

٣) زيادة كمية المواد العضوية بالتربة .

٤) حماية التربة من عوامل التعرية Erosion وذلك فى الاراضى المعرضة بكثرة للعوامل الطبيعية السيئة كالرياح الشديدة والامطار الغزيرة .

وتجدر هنا الاشارة الى أن الاسمدة الخضراء سريعة التحلل فى الاراضى الرطبة وذلك بسبب قوام التربة وارتفاع درجة الحرارة وكثرة مرات الرى، ولهذا يجب اضافة المواد العضوية لهذه الاراضى بصفة مستمرة للمحافظة على خصوبتها ورفع قدرتها الانتاجية، ولن لم يتوفر فيضاف اسمدة معدنية نتروجينية مناسبة على دفعات اثناء نمو المحصول بالارض مع التحكم فى كمية وفترات الرى حتى لا يضيع السماد المضاف فى الصرف .

استغلال متخلفات المدن والمزارع الكبيرة

وفيما يلي موجز بوجوه هذا الاستغلال :

١) ببعض العمليات الكيماوية يمكن انتاج الآجار والالجين واليود من الاعشاب البحرية .

٢) ببعض العمليات الخاصة يمكن انتاج الالبومين والهيموجلوبين والاحماض الامينية من دم المجازر .

٣) من اللحوم المعدومة يمكن انتاج مسحوق اللحم ومسحوق العظام لتغذية الدواجن .

٤) من متخلفات الاسماك (رؤوس وعظام واحشاء) بمعالجتها بالبخار يمكن استخراج الزيوت والدهون والجيلاتين ثم ضغط الجوامد الى كسب ، وبالتجفيف والسحق يمكن انتاج مايعرف بجوانو الاسماك أو مسحوق السمك الذى يستخدم فى تغذية الدواجن .

٥) بمعاملة المتخلفات الزراعية بالاحماض تتحول المواد الكربوايدراتية الى سكريات قابلة للتخمر كالجلوكوز والزيلوز ، والاول يمكن تحويله الى كحول ايثايل بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevicieae* ، والثانى يمكن تحويله الى كحول البيوتيل والاسيتون وكحول الايثيل بواسطة البكتريا *Clostridium acetobutylicum* ، كما يمكن تحويلها الى مواد دهنية باستعمال أنواع من الخمائر والفطريات مثل *Endomyces virimalis* ، أو تحويل سكر الزيلوز الى مواد بروتينية باستعمال الخميرة الكاذبة مثل *Candida utilis* . وكذلك من بعض المنتجات الزراعية مثل القوالح وسرس الارز وقصره بذرة القطن وحطب الذرة يمكن استخراج الفورفورال Furfural ، وذلك بتسخين هذه المنتجات مع حامض الكبريتيك تحت ضغط عال . هذا بالاضافة الى أنه يمكن انتاج حمض اللكتيك من شرش اللبن بواسطة البكتريا Lactobacilli ويمكن انتاج كحولات وفيتامينات بتأثير بعض الخمائر والفطريات .

٦) يمكن انتاج السماد العضوى من فضلات المدن الكبرى من قمامة المدن والاعشاب البحرية ودم المجازر واللحوم المعدومة وقصاصات الجلود ومتخلفات الاسماك والمتخلفات الزراعية، فيلحق بكثير من المدن الكبرى مصانع لانتاج هذه الاسمدة، وفى هذه المصانع يعمل على تجميع القمامة ثم يفصل منها الزجاج والصينى والحديد وعلب الصفيح وغيرها وتطحن أو تترك كما هى وتعبأ فى صوامع خاصة ، وهذه مزودة بوسائل تهوية مثل انابيب لضغط الهواء بها كما تزود ايضا برشاشات للماء ، وقد يستعمل ماء المجارى المتبقى بعد تخليصه من المواد العضوية، وهو غنى بالاملاح المختلفة خصوصا املاح النتروجين، فى رش هذه المتخلفات بدرجة تسمح لنمو الميكروبات الهوائية كما يقلل من الحرارة الناتجة عن التحليل اذ قد ترتفع الى ٦٠ - ٦٥°م، وهذا النطاق كاف لقتل كثير من الميكروبات خصوصا المرضية .

بعد فترة التحلل يسحب السماد الناتج ويطحن جيدا ويباع كسماد عضوى ، وأهميـة هذا السماد عظيمة اذ انه يحتوى على المواد الكربوهيدراتية المعقدة التركيب والتى تزيـد من نسبة الدوبال بالتربة علاوة على الاملاح النتروجينية الهامة لتغذية النبات ، وطريقـــة تحويل القمامة الى سماد تعتبر صورة من صور الاستغلال الاقتصادى السليم للمتخلفات .

وعموما هناك عدة طرق لتحويل القمامة Garbage الى سماد وهى تقسم تحت ثلاثـة أقسام رئيسية :

أولا : القسم الاول (التخمير الهوائى) :

وفيها تجرى التهوية بدفع الهواء اذا كان التخمر فى حجرات أو أبراج أو بتكرار التقليب على فترات قصيرة متى كان التخـمير فى كومات .

ثانيا : القسم الثانى (التخمير المختلط) أو الشبه هوائى :

يحد من كمية الهواء الذى يلامس الاجزاء الداخلية للقمامة ، فاذا كـــان التخمير فى حجرات أو أبراج فأنها تترك مفتوحة لايام قليلة ثم تغلق حتى النضـج أو يدفع فيها الهواء بين حين وآخر . أما اذا كان التخمير فى كومات فأن طبقاتهـا تضغط عند بنائها ، ثم تقلل مرات تقليبها أو تترك هوائية أى بدون ضغط لايام قليلة ثم تضغط وتطمس بالطين مثلا لمنع الهواء عنها .

ثالثا : القسم الثالث (التخمير اللاهوائى) :

يمنـع الهواء من أول الامر عن القمامة سواء وضعت فى حجرات أو أبراج أو فـى أكوام . وهناك طرق عديدة لتحويل القمامة الى سماد منها طريقـة Boggiano Picco المتبعة فى مصر .

المَراجِعُ

أ) مراجع عربية مختارة :

جمال الدين محمد الصادق ، سعد على زكى محمود (١٩٦٧) .
الميكروبيولوجيا التطبيقية العملية - الطبعة الثانية - الانجلو - القاهرة .

سعد على زكى محمود ، عبد الوهاب محمد عبد الحافظ ، محمد الصاوى مبارك (١٩٨٢) .
ميكروبيولوجيا الاراضى - كلية الزراعة - جامعة عين شمس - شبرا الخيمة - القاهرة .

صلاح الدين محمود طه (١٩٦٨) .
الميكروبيولوجيا العامة - الطبعة الاولى - دار المعارف - القاهرة .

صلاح الدين محمود طه ، سعد على زكى محمود (١٩٦٦) .
ميكروبيولوجيا الاراضى - الطبعة الثانية - دار المعارف - القاهرة .

مارتن الكسندر (١٩٨٢) .
مقدمة فى ميكروبيولوجيا التربة - جون وايلى - نيويورك - الطبعة الثانية - مكتبة الاهرام - القاهرة .

محمد ابو الفضل محمد (١٩٦٠) .
الاسمدة العضوية وتصنيع المخلفات النباتية والحيوانية - القاهرة .

محمد نبيل علاء الدين ، سمير السيعى ، محمود حنفى ، ابراهيم عبد العزيز (١٩٨٣) .
البيوجاز للريف المصرى : طاقة ، سماد ، علف .
وزارة الزراعة - الجيزة - مصر .

مصطفى كمال أبو الذهب (١٩٦٥) .
البكتريا . الطبعة الاولى - دار المعارف - القاهرة .



ب) مراجع انجليزية مختارة :

B. Selected English References:-

Abdel-Malek, Y. 1971
Free-living nitrogen fixing bacteria in Egyptian soils and their possible contribution to soil fertility. Plant and Soil ,Special Volume : 423-442.

Abdel-Malek, Y. and Y.Z. Ishac 1968.
Evaluation of methods used in counting Azotobacter. J. Appl. Bact., 31, 267-275.

Ahmadjian, V. and M.E. Hale (eds.) 1973.
The lichens. Academic Press, New York.

Alexander, M. 1971.
Microbial Ecology. John Wiley & Sons Inc. New York.

Alexander, M. 1977 & 1982.
Introduction to soil microbiology. 2nd Ed. John Wiley & Sons Inc. New York.

Allen, Hollaender (ed.) 1977.
Genetic engineering for nitrogen fixation. Plenum Press, New York & London.

Allen, O.N. 1961.
Experiments in soil bacteriology. Burgress Puplishing Co., Minneopolis, Minnesota,USA.

Akkermans, A.D.L.; D. Baker; K. Huss-Danell and J.D. Tjepkema (eds.) 1984.
Frankia Symbiosis. Kluwer Academic Publishers Group, Boston, USA.

Atkinson, D. (ed.) 1983.
Tree root systems and their Mycorrhizas. Kluwer Academic Publishers Group, Boston, USA.

Baker, K.F. and R.J. Cook 1974.
Biological control of plant pathogens. Freeman & Co., San Francisco, USA.

Bear, F.E. (ed.) 1964.
Chemistry of the soil. Reinhold Pub. Corp., New York.

Becking, J.H. 1970.
Plant endophyte symbiosis in non-leguminous plants. Plant & Soil, 32, 611-654.

Bergey's manual of determinative bacteriology 1974.
8th Ed. Breed, R.S., E.D.S. Murray and N.R. Smith (eds.).Williams & Wilkins, Baltimore, USA.

Bergey's manual of systematic bacteriology 1984.
Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
Vol. 1. Krieg, N.R. (ed.). Ordinary gram negative bacteria.
Vol. 2. Sneath, P.H.A. (ed.). Ordinary gram positive bacteria.
Vol. 3. Staley, J.T. (ed.). Bacteria with unusual properties.
Vol. 4. Williams, S.T. (ed.). Gram positive filamentous bacteria of complex morphology.

Brock, T.D.; D.W. Smith and M.T. Madigan 1984.
Biological of microorganisms. 4th Ed., Printice-Hall Inc., London.

Burges, N.A. and F. Raw (eds.) 1967.
Soil Biology. Academic Press, London.

Caplan, S.R. and M. Ginzburg (eds.) 1978.
Energetics and structure of halophilic microorganisms. Elsevier, Science Publishers, Amsterdam, Holland.

Carr, N.G. and B.A. Witton (eds.) 1973.
The biology of blue green algae.
Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

Carson, E.W. (ed.) 1975.
The plant root and its environment.
University Press of Virginia, Charlottesville, USA.

Cochran, W.G. 1950.
Estimation of bacterial densities by means of the most probable number. Biometrics, 6, 105-116.

Cooke, R. 1971.
The biology of symbiotic fungi. John Wiley & Sons Inc., New York.

Dickinson, C.H. and T.F. Preece (eds.) 1976.
Microbiology of aerial plant surfaces. Academic Press, London.

Difco manual of dehydrated culture, media and reagents 1978.
Difco Laboratories, Ditroit, Michigan, USA.

Dobereiner Johanna; I.E. Marriel and M. Nery 1976.
Ecological distribution of *Spirillum lipoferum*.
Can. J. Microbiol., 22, 1464-1473.

Doelle, H.W. 1975.
Bacterial Metabolism. Academic Press, New York.

Dommergues, Y.R. and H.G. Diem (eds.) 1982.
Microbiology of tropical soils and plant productivity.
Kluwer Academic Publishers Group, Boston, USA.

FAO Soils Bulletins 1975 to 1982.
Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy.
Bull. Nos.: 27, 34, 35, 36, 40, 41, 43, 45, 46, 49.

Fay, P. 1983.
The blue greens. Edward Arnold Ltd., London.

Fogg, G.E.; W.D.P. Stewart; P. Fay and A.E. Walsby 1975.
The blue green algae. Academic Press, London.

Garrett, S.D. 1963.
Soil fungi and soil fertility. Pergamon Press, Oxford, UK.

Hardy, R.W.F. and W.S. Silver (eds.) 1977.
A Treatise on dinitrogen fixation. John Wiley & Sons Inc., New York.

Harley, J.L. 1969.
Biology of Mycorrhiza. 2nd Ed., Leonard Hill, London.

Harley, J.L. and S.M. Smith 1983.
Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, London.

Helling, C.S.; P.C. Kearney and M. Alexander 1971.
Behaviour of pesticides in soils. Adv. Agron., 23, 147-240.

Hobson, P.N.; S. Bousfield and R. Summers 1980.
Methane production from agricultural and domestic wastes. Applied Science Publishers, Barking, England.

Jackson, M.L. 1967.
Soil chemical analysis. Prentice-Hall Inc., London.

Kearney, P.C. and D.D. Kaufman 1969.
Degradation of herbicides. Marcel Dekker, New York.

Klug, M.J. and A.J. Markovetz 1971.
Utilization of aliphatic hydrocarbons by microorganisms. Adv. Microbial Physiol., 5, 1-53.

Klug, M.J. and C.A. Reddy (eds.) 1984.
Current prospects in microbial ecology. Amer. Soc. Appl. Microbiol., Washington D.C., USA.

Lumpkin, T.A. and D.Z. Plucknett 1980.
Azolla; botany, physiology and use as green manure. Economic Botany 34 (2), 111-153, The New York Botanical Garden. Bronx, New York.

Luria, S.E. and J.E. Darnell Jr. 1967.
General Virology. John Wiley & Sons Inc., New York.

Mahmoud, S.A.Z.; A.M. Abdel-Hafez; M. El-Sawy and Ehsan A. Hanafy 1973 to 1976.
Series of papers on phosphate dissolvers in Egyptian soils.
Agrokemia Es Talajtan, Budapest, Hungary, 22, 351-368, 1973.
Zbl. Bakt. Abt. II, 128, 196-202 & 524-531, 1973.
Egypt. J. Botany, 18, 101-114, 1975.
Egypt. J. Soil Sci., 16, 9-20, 1976.

Marks, G.C. and T.T. Kozlowski 1973.
Ectomycorrhizae : Their ecology and physiology.
Academic Press, New York.

Mclaren, A.D. and G.M. Peterson (eds.) 1967.
Soil Biochemistry. Marcel Dekker, New York.

Mosse Barbara and D.S. Hayman 1980.
Mycorrhiza in agricultural plants. In Tropical mycorrhiza Research.
Edited by P. Mikola, University Press, Oxford, UK.

Nutman, P.S. (ed.) 1976.
Symbiotic nitrogen fixation in plants. Cambridge University Press,
London.

Ormerod, J.G. 1983.
The phototrophic bacteria. Blackwell Scientific publications Ltd.,
Oxford, UK.

Parkinson, D. and T.R.G. Gray (eds.) 1967.
The ecology of soil bacteria. Liverpool Univ. Press, Liverpool,
UK.

Parkinson, D. and J.S. Waid (eds.) 1960.
The ecology of soil fungi. Liverpool Univ. Press, Liverpool, UK.

Piper, C.S. 1955.
Soil and plant analysis. Interscience Publishers, New York.

Postgate, J.R. 1978.
Nitrogen fixation. Edward Arnold, London.

Quispel, A. (ed.) 1974.
The biology of nitrogen fixation. North-Holland Publishing Co.,
Amsterdam, Holland.

Rheinheimer, G. 1980.
Aquatic Microbiology. 2nd Ed. John Wiley & Sons Inc., London.

Richards, L.A. 1954.
Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils.
USA Dept. of Agric., Agric. Handbook No. 60, 14-133.

Round, F.E. 1973.
The biology of the algae. Edward Arnold, London.

Russell, E.J. 1950.
Soil conditions and plant growth. 8th Ed., Longman, Green & Co.,
London.

Russell, E.W. 1973.
Soil conditions and plant growth.
11th Ed., Longman, Green & Co., London.

Sanders, S.; Barbara Mosse and Tinker (eds.) 1975.
Endomycorrhiza. Academic Press, London.

Sarles, W.B.; W.C. Frazier, J.B. Wilson and S.G. Knight 1951.
Microbiology : General and Applied. 2nd Ed., Harper and Brothers, New York.

Schibles, R. (ed.) 1984.
World Soybean Research Conference III. Abstract of papers. Iowa State Univ., Ames, Iowa, USA.

Schlegel, H.G. and J. Barnea (eds.) 1976.
Microbial energy conversion. E. Glotze Kg, Gottingen, West Germany.

Schuler, M.L. (ed.) 1980.
Utilization and recycle of agricultural wastes and residues. CRC Press Inc.

Skerman, V.B.D. 1976.
A guide to the identification of the genera of bacteria.
Williams & Wilkins, Baltimore, USA.

Stafford, D.A.; B.I. Wheatley and D.E. Hughes (eds.) 1980.
Anaerobic digestion. Applied Science Publishers, Barking, England.

Starr, M.P. and J.C.C. Huang 1972.
Physiology of the Bdellovibrios. Adv. Microbial Physiol., 8, 215-261.

Stewart, W.D.P. (ed.) 1975.
Nitrogen fixation by free-living microorganisms. Cambridge Univ. Press, London.

Stewart, W.D.P. and J.R. Callon (eds.) 1980.
Nitrogen fixation. Academic Press, London.

Subba Rao, N.S. 1980.
Recent advances in biological nitrogen fixation.
Edward Arnold, London.

Subba Rao, N.S. (ed.) 1982.
Advances in agricultural microbiology. Oxford & IBH Publishing Co., New Delhi, India.

Sykes, G. and F.A. Skinner (eds.) 1973.
Actinomycetes : characteristics and practical importance.
Soc. Appl. Bact., Academic Press, London.

Taha, S.M.; S.A.Z. Mahmoud; A.H. El-Damaty and A.M. Abdel-Hafez 1969.
Activity of phosphate dissolving bacteria in Egyptian soils.
Plant and Soil, 31, 149-160.

Thompson, I.M. and F.R. Toeh 1973.
Soils and soil fertility. Mc-Graw Hill Book Co., New York.

Tinsley, J. and J.F. Darbyshire (eds.) 1984.
Biological processes and soil fertility.
Kluwer Academic Publishers Group, Boston, USA.

Van der Laan, P.A. (ed.) 1967.
Insect pathology and microbial control.
North-Holland Publishing Co., Amsterdam, Holland.

Veeger, C. and W.E. Newton (eds.) 1984.
Advances in nitrogen fixation. Martinus Nijhoff, Dr. W. Junk Pub., Wagening, Holland.

Waksman, S.A. 1952.
Soil Microbiology. John Wiley & Sons Inc., New York.

Waksman, S.A. 1967.
The Actinomycetes. The Ronald Press, New York.

Walker, N. 1975.
Soil Microbiology. Butterworth, London.

أ

ب

ث

ج

ح

خ

د

ز

س

ش

ص

ط

ع

ق

ك

ل

م



D

E

F

G

فهرس الاسماء العلمية

SCIENTIFIC NAMES INDEX

A

B



المؤلفون في سطور

د. سعد علي زكي محمود

* من مواليد شبين الكوم ، منوفية عام ١٩٢٤ .
* حصل على بكالوريوس في العلوم الزراعية عام ١٩٤٧ من زراعة شبين الكوم .
* حصل على بكالوريوس ميكروبيولوجي من كلية العلوم جامعة ادنبرة عام ١٩٥٢ .
* حصل على دكتوراه ميكروبيولوجي من جامعة ليدز بانجلترا عام ١٩٥٥ .
* له أكثر من ٣٥٠ بحث منشور في فروع الميكروبيولوجيا المختلفة علاوة على اشرافه على أكثر من ٢٠٠ رسالة ماجستير ودكتوراه .
* رئيس وعضو في عدة هيئات وجمعيات علمية واكاديمية .
* تدرج في وظائف هيئة التدريس بالجامعة الى أن أصبح عميدا لكلية الزراعة جامعة عين شمس ، القاهرة .
* يعمل حاليا استاذا متفرغا بكلية الزراعة جامعة عين شمس ومستشارا لمركز البحوث الزراعية .
* من مؤلفاته كتاب الميكروبيولوجيا العملية ، وكتاب ميكروبيولوجيا الاراضي ، وكتاب امراض النبات البكتيرية والفيروسية .
* له براءة اختراع انزيم الاميليز والبروتينيز .
* حائز على وسام العلوم والفنون من الطبقة الاولى وعلى جائزة الدولة في العلوم الزراعية .
* متزوج وله ولد وبنتان .

د. عبد الوهاب محمد عبد الحافظ

* من مواليد المنصورة عام ١٩٣٧ .
* حصل على بكالوريوس العلوم الزراعية عام ١٩٥٩ ثم على الدكتوراه فى الميكروبيولوجيـــا الزراعية عام ١٩٦٦ من كلية الزراعة - جامعة عين شمس .
* له مايزيد عن ٦٥ بحث منشور فى فروع الميكروبيولوجيا المختلفة ، علاوة على اشرافه علـى أكثر من ٣٠ رسالة ماجستير ودكتوراه ، ومشاركته فى العديد من المؤتمرات المحليـــة والدولية ، بالاضافة الى عمله كمحاضر فى بعض الجامعات العربية .
* عضو فى عدة هيئات وجمعيات علمية واكاديمية .
* حاليًا استاذ بقسم الميكروبيولوجيا الزراعية ، رئيس جامعة عين شـــــمس
* متزوج وله ولدان .

د . محمد الصاوى محمد مبارك

* من مواليد القاهرة عام ١٩٢٨ .
* حصل على البكالوريوس فى العلوم الزراعية عام ١٩٤٩ من كلية الزراعة جامعة القاهرة .
* حصل على الدكتوراه فى الميكروبيولوجيا الزراعية عام ١٩٦٦ من كلية الزراعة جامعــــة عين شمس .
* شارك فى العديد من النشاطات والمؤتمرات العربية والدولية بالاضافة الى عملـــــه كمحاضر فى بعض الجامعات العربية .
* له مايزيد عن ٦٥ بحث منشور فى المجلات العلمية المحلية والدولية وذلك فى مجــــال الميكروبيولوجيا التطبيقية .
* شارك فى الاشراف على ٢٧ رسالة ماجستير ودكتوراه .
* عضو فى عدة هيئات وجمعيات علمية واكاديمية .
* محرر مجلة حوليات العلوم الزراعية بكلية الزراعة جامعة عين شمس .
* يعمل حاليا كأستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا الزراعية بكلية الزراعة جامعة عين شمس ، بالقاهــرة .
* متزوج وله ابنة واحدة .

رقم الايداع بدار الكتب بالقاهرة ٥٥٧٩ / ٨٧
الرقم الدولى للكتاب ٤-٠٦٠٤-٠٥-٩٧٧

مجدى الشرقاوى
لطباعة الاوفست
٧٠ شارع الورشة - شبرا مصر

زكى ، عبد الوهاب ، الصاوى
ميكروبيولوجيا الاراضى
- القاهرة -